日本水產學會誌

第十八卷 第九號

Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries

Vol. 18, No. 9, 1953

目 次

昭和二十八年
日本水產學會
The Japanese Society of Scientific Fisheries
TOKYO

電氣漁網の研究—VII.
電位分布よりみた實用型式について

黒木 敏郎・中馬 三千雄
（鹿児島大学水産学部）

Studies on the Electric Fish Screen—VII.
About the Practical Arrangements of Electrodes to Give Proper Distribution of Potential

Toshiro KUROKI and Michio CHŪMAN

The shapes of the electrodes which are used practically in fisheries by electric shocks are usually complicated. It is difficult to inter theoretically the distribution of the electric potential which is caused by these practical electrodes.

In this papers the authors describe about the potential distributions which are caused by some arrangements of model electrodes in the sea-water under the practical conditions.

Obtaining result are as follows :

a) The difference of the distributions between the equi-potential lines by low frequency pulse and the ones by 60 ∿ alternative current is practically negligible (in longitude, 0.5 %).

b) The sand-bed of the sea has an effect to expand the electric potential distributions.

c) It seems more effective to use two oppositely charged electrodes at the sides of the mouth of the trawl-net than to use one electrode at the lower-side of the mouth and another at the ship-side.

d) The potentical distribution showed in the suctorial electric fishing method which was tested by F. CERNIGIN should be effective.

I. 緒 言

漁業が一本釣・延縄漁業・網漁業という順に点から線へ，線から面へ面から立体へと操業活動の次元で発展して来たように[1]，更に又定置網より流し網へ，流し網より曳き網へと漁具移動による次元の拡張を図つたように，電気漁網も次元拡大発展の途を辿らなければならない。

所で面や立体の電気漁法で実用に供せられる電極配置は複雑な電位分布を生ずる筈であり，電極を球や無限直線などと考えてする理論的な方法だけではその的確な分布状況を把握することが誠に困難である。筆者等は海水槽内の模型で実用に近い電極配置を設け，これによつて生ずる電位分布を測定したので，その結果をこゝに報告する。

II. 実験の方法

電解消耗[2]や材料価格などの点よりみて，電気漁法の電極に何が最も適当しているかは今後検討を続ける予定であるが,今回は電極として銅板と銅線とを用いた。電位線測定には Kohlrausch bridge 方式を採り，

1951 年 9 月 25 日受理

レシーバーに生ずる音源として実用パルス（リズム数毎秒約13，一波通電時間 0.0003 sec.，電圧 180 volts）を用いたので測定精度は相当高く，等電位線の位置が ±0.5 mm 以内の誤差で求められた。海水温度は16.0～18.4°C，海水槽の大きさは略々 1 m 立方で，模型電極は実用の場合に相似の比率で縮小単純化してある。

Ⅲ. 実験極果並に考察

a）リズム数・パルス波形の電位分布に及ぼす影響　実用の範囲では殆んど無視出来る程度に小さい。13 リズムの実用パルスと 60 ～の正弦波交流との間では約 0.5 %の差（300 mm の距離で 1.5 mm の等電位線の偏差）が認められるけれども，電極面に酸化銅の被膜を生じたり水素被膜で逆起電力を生じたりすることによつてこの程度の電位線偏差はしばしば起るので実用上無視出来るものと思われる。

b）電位線分布に及ぼす砂底の影響　対面電極の測定例を示せば第 1 図のようになる。海水面下に長短形の薄い面電極を鉛直に置いた時電極面の中心で面に垂直な方向で等電位線を求めると，深い場合実線の如くなる電位分布が浅底砂面のある場合には破線のように拡がつて来る。両極の中央に 5/10 の等電位線が鉛直に生ずることは両場合について同じであり，この左右に同様な対称形の等電位線分布が現われるので片側だけを図に示した。

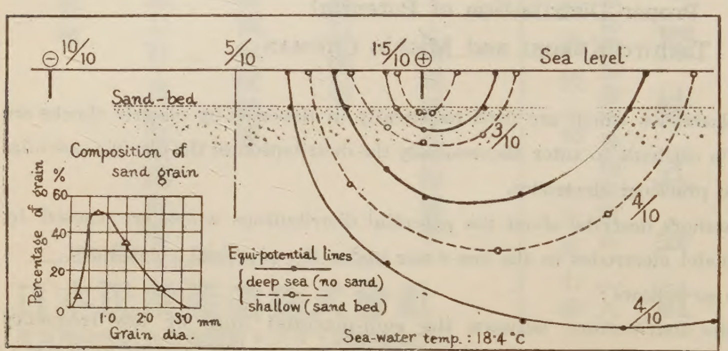


Fig. 1. Effect of the sand-bed to equi-potential line.

海底の砂の粒度組成は同図左下に示すように，0.5～1 mm 径の粒を 50 %含み 1～2 mmの粒を 35 % 含む粒度分布をもち，その砂質は殆んど 8 割が白色の石英粒であつて残り 2 割は黒い堅石を主とする小礫粒である。砂中の電導度は海中のそれより小となるべきであり，従つて等電位線が砂の中で拡がるのは当然であろう。浅い場合海水中の電位分布も砂底のために引きずられて拡がつたものと考えられる。この結果より推せば岩礁地帯の追い出しについては電力的に相当有利な点を期待し得よう。

c）底曳型電極による電位分布　海底に接して網口下縁に半円周形の一極を置き 他極を曳船の 底に置い

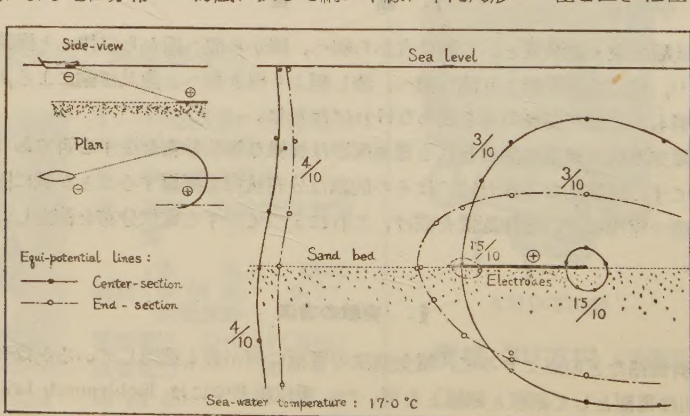


Fig. 2. Arrangement of electrodes ; one aft, another at the lower-side of the mouth of net.

た場合の等電位線の分布状況を第2図に示す。実線は電極中心線を含む鉛直面上の分布を，鎖線は半円形縁端で同面に平行な鉛直面上の分布をあらわす。見る通り 3/10 とか 4/10 とかの等電位線が相当拡がつて前に出ている。この分布は感電乃至痳痺帯の範囲が広いという意味で電力的に有利であると考えられるが，電位傾度の大きさに深甚の注意を払わなければ網口前で魚群を追い散らす結果になりかねない。第3図は網口の上縁下縁に等しい半円周形の二極を置いた例である。前図と同じく実線は中心断面での，鎖線は縁端における平行直面での，電位分布状況をそれぞれ示す。このやり方では前の場合と比べて等電位線分布が相当狭められている。これは前例より電力的には不利であるけれども実用上次の如き長所をもつている。魚群は 6.5/10 位の等電位線にほぼ平行に網口へ近づくから追い払い効果を受けない。且網口の両縁端よりも中央部の電位が後退しているし，網口の上部には魚群の散逸を防圧し得るような電位配置も生じている。その上，網が漁獲物で重くならないためには網口で一時痳痺した魚が網の奥へ入つて後蘇生せねばならない所を，その目的に前例よりも遙かによく沿つているように思われる。底曳用の電気漁網には前者より後者の電極配置が実用上遙かに有利であると言わねばならない。

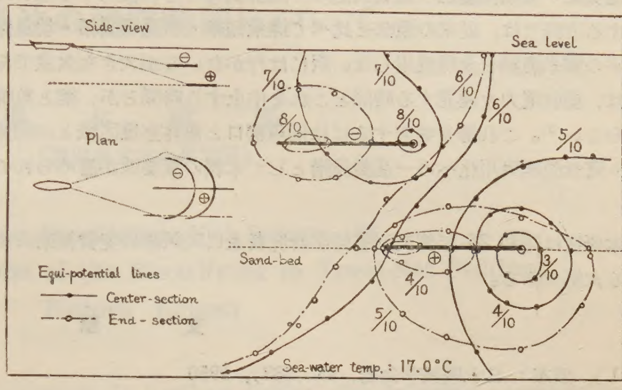


Fig. 3. Arrangement of two electrodes; at the upper-side and the lower-side of the mouth of net.

d) 吸込漁法と組合せた時の電位分布　電気漁法と吸込漁法との組合せた実際の試験はソ聯の M. F. CERNIGIN 氏が淡水湖で行つたと伝えられたもの[3]である。この方法では電場内の痳痺した魚類を吸込みポンプで船内へ吸い上げてしまうのであるが，船中央の舷側に水中へ垂下された電極兼用の吸込口と，船首船尾の両方から突き出して水中へ下された2個の球状電極との間に電場が形成される。第4図に示すようにこの電極配置は有望である。船側の吸込口を中心としたルツボ形の等電位面が形成され電位傾度を適当に採り得る範囲が広いのであるから CERNIGIN 氏の淡水湖実験が成功したのも理由なしとしない。但し之を海水中で実施するとなれば電力上の問題が起り低周波衝戟的瞬間大電力を使用せざるを得ないであろう。

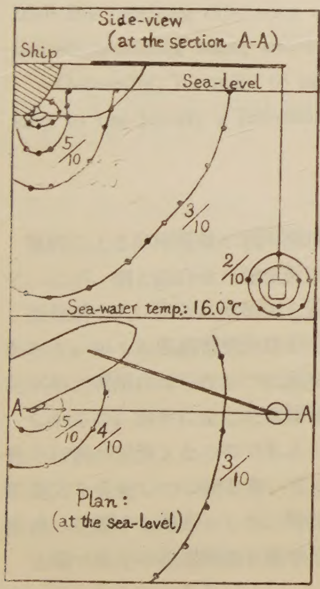


Fig. 4. Arrangement of two special electrodes; at suctorial electric fishing.

e) 其他の電極配置による電位分布　最近外誌[4]に掲げられている Konrad KREUTZER 氏の計画電極を検討した。船尾に向い合せの両電極を置き網口にもう一組の両電極を向い合せた配置である。この場合には2組の対電極をたすき配線にしても並行配線にしても，又向い合せ面を直角にひねつても電位分布の状況は殆んど変らない。何れの場合でも両組対電極の中央に 5/10 の等電位面が生じ，4/10 以下の電位線は極面附近に狭くまとまつてしまう。魚が等電位線に沿つて網中へ導入される点以外には大きな利点を見出し得ない。今夏（1951）行われるという同氏の試験漁法の成果に重大関心を有する所以である。この他，木船の船首と船尾とに両電極を張りつけた場合，垂下直線電極の組合せによる場合などについて試

験したが特異な点を見出さなかつたので，本報にはこれらを省略する。

Ⅳ. 結　び

電気鋸・養殖保護垣・電気吸込み・魚群誘導などに活用する場合を別としても，電気漁網を直接漁獲に利用する方法では，従来の漁法と比べて操業短縮・新漁場開拓・幼魚保護などの有利な諸点を有するに拘らず在来の編糸漁網を全然混用しない訳には行かないのが大きな欠点であろう。この糸で編んだ網との併用の際には，衝戟電力を連発する時間とこれを中止する時間とが，網と魚群との相対速度より適当に定められねばならない[5]。これ等を考究するには捕魚網口と魚体感電区域との関係が明確にされる必要がある。その観点より電気漁網実用化への一進展段階として本報の重要性が認められてよいと思う。

本研究は昭和 26 年度文部省科学研究費並に同試験研究費補助によつてなされた。こゝに深甚の謝意を表する次第である。

文　献

1） 黒木：日本機械学会誌，**53** (383)，1950
2） 黒木：機械の研究，**3** (7) 1951
3） *Commercial Fisheries Abstracts*, **3** (12), 1950
〔*Commercial Fisheries Review*, **12** (7) 1950〕
4） *Commercial Fitheries Review*, **13** (1), 1951
5） 黒木：日本水産学会誌，未発表

電氣漁網の研究—VIII.
曳網漁法の送電時間について

黒 木 敏 郎
(鹿児島大学水産学部)

Studies on the Electric Fish-Screen—VIII.
About the Interruption of the Electrifying in Trawl-Net Fishing

Toshiro KUROKI

In the application of the electric-shocks in trawl-net fishing, the following considerations are needed ; in order to put out the effect by which the fishes turn away from an electrifying zone, the period of interruption of the supplying of electricity has to be adopted because of the electrocuting zone takes with the electrifying one around it.

As the results of the calculation by a simple theory, it is suitable to supply electricity for about 30 secs. and to interrupt it for 1～2 mins. When the dimention of a fish-school is small, the electrocuting treatment must be done only once under the method of "hit and run", then the catching efficiency may over 50%. And, when the dimention is equal to the one of the electrocuting zone, the efficiency become 100%.

Generally, in order to apply the electric-shocks to trawl-net fishing effectively, it is necessary to use jointly a fish-finder.

I. 緒 言

電戟による麻痺現象の利用漁法として電気捕鯨[1]や延縄漁での害魚捕殺[2]などについてはすでに述べられているが，網と組合せた電気漁法に関する記述はまだ少いようである。

捕魚網の入口附近に麻痺域を設け，その域内の魚類を動けなくして置いて網を動かせば魚の捕獲は容易であろう。かゝる曳網電気漁法が可能となれば，現用底曳漁業でも漁獲效率の向上を期待し得るのみならず，従来殆ど実用にならなかつた表層・中層[3]のトロール漁業も実施可能となる筈である。

しかるに，海中に生じた麻痺域は必ずその周囲に相当広い感電域を伴つている筈である[4]し，感電域では魚の行動が活潑となるのであるから，電戟曳網必ずしも捕魚效果大なるものとは限らない。即ち，無暗に衝戟電力を発射しつつ網を曳いても魚を追い散らした後を曳くだけで漁獲は少いことになる。そこで必然的に曳網へ送電する時間としない時間とをうまく組合せる事が肝要となる。

本報ではその送電時間を簡単な理論から導出し，実験結果や各種報告資料に基いてその具体的な数値を求めんとしたものである。

II. 送電時間と漁獲效率との算出

1951年9月25日受理

今，図の如く曳網の行く手に魚群がいたとする。その時の条件を

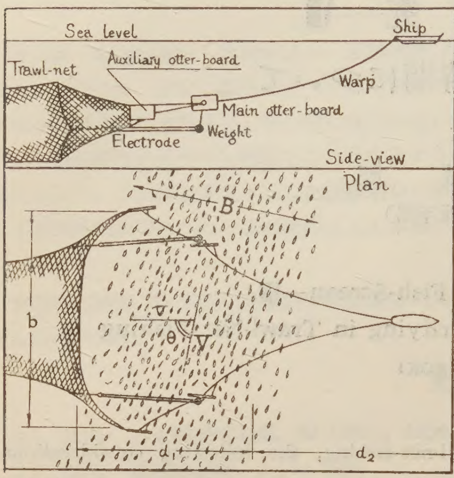


Figure for illustration.

v m/sec：網の進行速度，
V m/sec：魚群の正常游泳速度，
V' m/sec：魚群の急逃泳速度，
$\theta°$：網と魚群の行き違う角度，
b^{m}：網口の有効巾，
B^{m}：魚群の平均巾，
$d_1{}^{\text{m}}$：網進行方向についての麻痺域巾，
$d_2{}^{\text{m}}$：同上感電域巾，

と置いて考察を進めよう。送電し始めると網口巾 b に亘つて d_1 なる範囲の魚群は麻痺するけれども，その前方 d_2 なる範囲では感電効果のため魚は活潑に泳ぎはじめて群泳に動揺を来たす。逃泳速度 V' は平常の速度 V の5倍に達するといわれている[5]。実験によれば，特定の方向へ逃げる事なく右往左往して，電場から外れた時のみその位置を保とうとする程度にすぎない。感電した魚が全部網口巾から外へ逃げ去るとは考えなくてもよい所以である。送電継続の最小時間は衝戟電圧の高低に左右される。即ち，電圧が充分に高くて送電停止後も魚の麻痺状態が相当時間解けない程度ならば，速度 V' で巾 b を横切つて逃避してしまうのに要する時間だけ送電する。送電停止と同時に魚が動ける程度の電圧ならば，速度 v で麻痺域 d_1 を通過するに要する時間に上述の時間を加えたものが所要送電時となる。従つて送電すべき時間 t_1 の範囲は

$$\frac{b}{V'} < t_1 \leq \frac{b}{V'} + \frac{d_1}{v} \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots 1$$

漁獲量当りの所要電力を減らしたり，魚を追い散らす効果を少くしたりするためには t_1 が短い程よい筈であるが，幼魚保護の見地より致死電圧に近い衝戟を掛けるのは避けた方がよく，実用上は低い麻痺電圧で1式右辺を目標に置いた送電時間を採るべきであろう。

次に t_2 だけ送電を停止して再び平静状態の魚群を網口前に置き得るのには，魚群に対して d_2 だけ網が前進せねばならないから

$$t_2 = \frac{d_2}{v + V\cos\theta} \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots 2$$

この時間 t_2 は短い程有利なことは勿論であつて，v や V が一定ならば，角 θ が小さい程即ち網が魚群と向い合う方向へ進む程，又感電域 d_2 の小さい程有利になる。θ を小にするためには魚群探知機によつて魚の進行方向を把握しなければならないし，d_2 を小にするためには電極の形と配置とを慎重に選ばなければならない。

網の進行方向における網口巾の間で進行距離に亘つて泳いでいた魚の総尾数を想定し，網中へ入つた尾数とこの総尾数との比を「入網率」と呼び，その値を普通曳網の場合に p_0，感電域での曳網の場合に p_2 とし，麻痺域での場合の値 $p_1 = 1$ と見做すならば，電気漁網を魚群縦深方向に用いる時の漁獲効率 η は

$$\eta = \frac{vt_1 \times p_1 + vt_2 \times p_2}{v(t_1 + t_2)} = \frac{t_1 + t_2 \cdot p_2}{t_1 + t_2} \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots 3$$

こゝに漁獲効率とは，ある操業時間内に網中へ入つた魚の尾数とその時間内に網が通過した立体海水中に操業前にいた魚の尾数との比を意味し，その操業時間内の入網率の平均値と考えてよい。

電戟を使わない普通曳網では3式に準じ

$$\eta_0=\frac{t_1\cdot p_0+t_2\cdot p_0}{t_1+t_2}=p_0$$

即ち進行距離の長短に関せず漁獲効率は入網率と等しい。

魚群の縦深長さ L が $v(t_1+t_2)$ より短い場合，一般的に言つて $\frac{B}{\sin\theta}<v(t_1+t_2)$ の場合には電戟を一度しか掛けられないから hit and run の仕方になる。この場合の漁獲効率 η' は

$$\eta'=\frac{vt_1+(L-vt_1)p_2}{L}=\frac{vt_1}{L}(1-p_2)+p_2 \qquad \cdots\cdots\cdots\cdots 4$$

となる。もし t_1 が適当に長くて丁度 $vt_1=L$ である時には $\eta'=1$ となり最高漁獲効率を示す訳であるが，1式に示される値を超えて t_1 を長くしても効率は低下するのであつて曳網操業中電戟を掛け続けるならば $\eta'=p_2$ という最低漁獲効率になつてしまう。

Ⅲ. 具体例による計算結果

マイワシを例[5]にとつて $V=0.4$m/sec, $V'=2$m/sec とし曳網の諸条件を $v=2.5$m/sec, $b=15$m, $d_1=40$m, $d_2=200$m と置けば1式と2式とより

$$7.5\text{sec}<t_1\leq 23.5\text{sec}$$

$$t_2=69\text{sec}$$

t_1 としては上述の如く右辺に近い値をとる方が好ましい。こゝで普通曳網における入網率を $p_0=0.25$ とするならば感電域での入網率も $p_2=0.20$ 程度には見込んでよいから3式より

$$\eta=40\%$$

と算定され，電気を用いない場合の6割増，電戟を掛け続ける場合の2倍に及ぶ漁獲が可能となる。

hit and run の場合，通電進行距離 vt_1 が魚群縦深長 L に近づけば漁獲効率は次第に上る筈であり，$L/v\cdot t_1=3$, 2, 1.5 に従つて効率は $\eta'=67\%$, 75%, 83% となり，$L=vt_1$ の時に $\eta'=100\%$ に達する。本例の結果を含めて，諸種の資料に同様な想定を置いた計算結果を表示した。漁獲効率の平均値は 40.3% となる。

Table of the result of calculation.

Species (Length of body in cm)	Swimming speed V m/sec	Electrocuting range d_1 m	Electricity		Catching efficiency η %
			Supplying t_1 sec	Interrupting t_2 sec	
Sardina melanosticta (35)	0.40	40	24	69	40
Scomber japonicus (50)	0.18	50	37	93	43
Seriola quinqueradiata (120)	0.48	70	33	117	38
Trachurus japonicus (40)	0.80	40	20	61	40
Salvelinus fontinalis (30)	0.30	40	26	71	41
Pagrosomus major (45)	0.45	40	23	68	40

Ⅳ. 結　　　び

以上簡単な理論計算と今迄の実験結果とから曳網電気漁法における送電時間・停電時間を求めた。送電時間は 40 秒以下，送電停止時間は2分以下である。この程度の時間は，魚体で網目を塞いで曳網抵抗を急増

させる程に致死又は仮死せしめるのでもなく，又遡泳して網口から外へ逸脱させてしまう程に弱く麻痺せしめるのでもなくて，捕獲するのに適当なだけ麻痺せしめるのに丁度都合のよい時間である。又これを底曳漁業に適用しても漁獲效率は増大こそすれ減少することはないと信ぜられる。

外誌に伝えられているドイツの K. KREUTZER 氏の実験[6]でも，本報に論じた如き送電停止時間を考慮していないならば，電戟をかけない曳網と同等か乃至それ以下の漁獲效率しか得られないであろうと思われる。何れにしても，魚群探知機を高度に活用しなければ本漁法は発展し得ないものであり，本報での所論もその価値を半減する。その意味に於て魚探研究と密接な連繋をとり，曳網口に魚群確認装置を設けるよう研究を進めている。

本研究の費用には文部省科学研究費の一部を以てこれにあてた。こゝに厚く感謝の意を表する次第である。

V. 文　　献

1) *K. SCHUBERT*: *U. S. Fishery Leaflet*, 348, (1949).

2) 黒　木・盛　田：鹿児島水産専門学校研究報告，1 (1950).

3) 小　林・高　橋：北大水産学部研究彙報，1 (3・4) (1951).

4) 黒　　　木：Ⅳ 日本水産学会誌，18 (1)，25～29 (1952).

黒　木・中　馬：Ⅶ "電位分布より見た実用形式" 日本水産学会誌，18 (8)，381 (1953).

5) 岡　　　部：水産研究誌，13，(12) (1936) より算出.

6) *Commercial Fisheries Review*, Jan. 1951.

白子の利用に關する研究—II*
農 薬 用 展 着 剤

故高岡道夫・石原義雄・辻野 勇
（北海道大学農学部水産化学教室）

On the Complete Utilization of Milts II. Utilization as a Spreader

Michio TAKAOKA, Yoshio ISHIHARA and Isami TSUJINO

We prepared dry materials of milts (Herrings, Cods, Salmons and Sharks) by adding Ca-compunds to them, and examined their actions as spreaders for agricultural chemicals.

Their spreading-, sticking- and emulsifying powers as spreaders are superior to the soy-bean spreader. The results (Table 1~8 and Fig. 1) show that it is very effective to use milts for spreaders.

序 論

魚類の白子は従来その一部が食用に供されるのみでその大部分は廃棄されている状態であり，鰊，鱈等の如く一時に大量に捕獲されるものでは白子の処置に苦しむ程である。北海道に於ては年平均数十万貫も白子が得られながらも上記の様に利用されていないのは資源的にも真に重大な問題であるので，当教室に於ては数年前より之が利用研究を行い，すでに木材用接着剤，水性塗料用としてカゼインに代えて用い得る事を認め，報告して来た[1]。今回は其後農業用薬剤の展着剤として応用した結果につき報告する。

農業用薬剤はその性質上懸濁性，展潤性，附着力の良好な事が望まれ，之等の性質を増強せしめるため添加する補助剤を展着剤と称し，通常カゼイン，大豆蛋白質，天然樹脂，油脂及び最近では合成樹脂等が用いられている。然しながら之等展着剤の性質を試験する満足な方法は未だ確立されていないので，吾々は白子を添加した農薬につき，懸濁性は沈降速度を測定し，又附着力は銅剤及び砒素剤を撒布し残存せる銅及び砒素量を測定して展着剤の効果を判定した。

実 験

〔I〕 試 料

白子は通常 70～80% もの大量の水分を含有し，腐敗しやすく保存には脱水乾燥しなければならない。然るに通常の脱水乾燥法では変性又は角質化しやすく困難であつて，噴霧乾燥が殆んど唯一のものである。

吾々は石灰化合物特に生石灰又は消石灰を白子に加えると乾燥及び粉末化が著しく容易になり，又水分含有量も 4% とすることに成功したので，実験に用いた展着剤はこの方法による白子粉末を使用した。但し鰊白子は噴霧乾燥品を用いた。

1951 年 10 月 1 日受理

* Contribution No. 137, from the Department of Fisheries, Fac. of Agr., Hokkaido Univ., Sapporo, Japan.

尙この乾燥粉末方法の詳細に就ては次報に報告の予定である。

〔Ⅱ〕 懸 濁 性

銅剤として硫酸銅 0.5%，生石灰 0.5% を含有するボルドー液に展着剤として鰊，鮫，鱈の白子及び市販大豆展着剤を夫々 0.2% 添加したものを使用し，之を直径 1.5 cm，長さ 12 cm の試験管に入れ振盪後静置し一定時間毎に液面の上端より沈降せる青緑色の上端迄の距離を測定した。

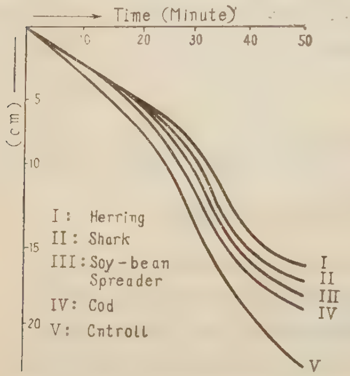


Fig. 1 Emulsifying Power of Milts.

第1図に見られる如く，懸濁性は鰊，鮫の白子は市販大豆展着剤よりも良好であり，鱈白子は大豆展着剤よりわずかに劣るが，無添加物に比しはるかに良好である。

〔Ⅲ〕 銅剤に対する附着力

銅の微量定量法としてアンモニア法，サリチル酸法，黄血塩法，デチゾン法，オキシン法等を行つて見たが，何れも感度が低かつたり操作が複雑であつたり一長一短があるので，操作簡単で鋭敏である Diethyldithiocarbamin 酸ナトリウムに依る比色法[2]を用いた。即ち適当に稀釈せる検液 15 cc に 0.1% Diethyldithiocarbamin 酸ナトリウム 2 cc を加え生成せる黄金色を標準の硫酸銅溶液（1 cc 中に Cu 5γ を含有）より発色した色とを Dubosq の比色計を用いて比色定量した。

（1） ブドウの葉による試験

鰊は白子，市販大豆展着剤を夫々 0.4% 添加したもの及び無添加のボルドー液（硫酸銅 0.5%，生石灰 0.5%）各々 500 cc を夫々ブドウの葉に噴霧器にて一様に撒布し，一定日数後に各区より葉 10 枚を夫々集め各葉を直径 10 cm の円形に切り取り，附着せる銅剤は 1N-HNO_3 10 cc を含む水にて溶解し，1N-NH_4OH にてほゞ中和し全量を水にて 100 cc とし，この中 15 cc につき上記の如く銅量を定量した。一定日数後に於る銅の減少した値を求めて附着力効果を比較した。測定結果中2例の減少率を示すと第1，第2表の如くである。

Table 1 Sticking power of milts.

	Decreasing rate %		
	5th day	9th day	11th day
Herring	24.4	31.5	45.3
Soy bean spreader	24.6	30.5	52.7
Controll	41.5	46.6	79.6

Table 2 Sticking power of milts.

	Decreasing rate %		
	6th day	10th day	16th day
Herring	10.7	16.0	31.7
Soy bean spreader	7.0	14.7	40.0
Controll	13.2	30.0	43.3

展着剤の効果は天候により左右されるが，第1，第2表よりも明かに認められる如く鰊白子は市販の大豆展着剤よりも良好である。

（2） スライドグラスに依る試験

植物の葉に撒布し定量する方法は煩雑であり且つ冬期には実施不能であるので，スライドグラス上に撒布し定量を行つて見た。この場合葉の表面とガラスの表面とでは性質が異るが，一応附着力試験の目安として行つた。

銅剤及び展着剤の組成は前記と同様にし，この液 0.1 cc をスライドグラス上に取り室温にて乾燥後，水 7*l* 中に一定時間浸漬（第3，第4表）又は水 10*l* を噴霧器にて人工雨としてそそぎ（第5，第6表）残存銅量を定量し，各 10 枚の平均値を求め減少率とした。

Table 3 Sticking power of milts.

	24 hrs.	96 hrs.
Cod	13.9%	34.9%
Shark	16.6%	—
Controll	19.4%	43.3%

Table 4 Sticking power of milts.

	24 hrs.
Salmon	8.8%
Controll	12.8%

Table 5 Sticking power of casein and milts.

Casein	4.4%
Salmon	15.0%
Controll	18.8%

Table 6 Sticking power of casein and milts.

Casein	4.5%
Salmon	10.5%
Salmon*	17.7%
Controll	22.7%

* Preserved at room temperature for 4 days.

以上の結果より魚類白子はカゼインよりは劣るが無添加物に比しはるかに良好であり，4日間室温（16～20°C）に生のまゝ放置せる鮭白子でも無添加物より優秀なる附着力を示している。

〔IV〕 砒素剤に対する附着力

砒素の定量法としては種々あるが，感度の最もよい砒化水素と昇汞による着色部の長さを標準として比較する方法[3]を採用した。

即ち第2図の如き装置を用いる。

定量を行うには A に無砒素亜鉛 5g，6N-H_2SO_4 25cc，10% 塩化錫溶液5滴を入れ，之に検液 1～5cc（この中にAs_2O_5 として 0.005～0.1mg 含む如く）を加え直に第2図の如く装置し 45 分反応せしめる。C の昇汞紙上に生じた着色部の長さを標準の砒素より生じたものと比較定量する。

A：口径 2.5cm，内容 50cc の砒化水素発生器。
B：全長 13cm のガラス管。上部の10cm は内径 1cm，下部の 3cm は内径 0.5cm。下部にグラスウールをつめ，その上に 0.5% 酢酸鉛液に浸し乾燥した長さ 7cm，巾10cm の濾紙をコイル状に巻いて入れ，上部に酢酸鉛液でしめした脱脂綿をつめる。
C：径 0.5cm，長さ 10cm のガラス管。5% 昇汞のアルコール液に30分つけ過剰の液を濾紙ではさみ取り，後乾燥した巾 0.3cm，長さ 12cmの定量用濾紙を中に挿入する。

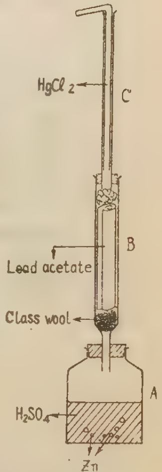


Fig. 2 Determination-apparatus of Arsenic.

市販農薬用砒酸鉛剤の 2% 液にカゼイン及び鰊白子を夫々 0.4% 添加し，噴霧器にてブドウの葉に撒布し，銅剤と同様に葉を集め灰化後残渣を稀硫酸に溶解し上記の如く砒素量を定量し減少率を求めた。

Table 7 Sticking power of casein and milts.

	Decreasing rate %	
	9th day	11th day
Casein	5.8	91.1
Herring	47.8	82.6
Controll	93.4	95.6

Table 8 Sticking power of casein and milts.

Casein	5.7%
Herring	16.0%
Controll	58.3%

又砒素剤をスライドグラスに取り乾燥後，水 7l で人工雨としてそそぎ減少率を測定した結果は第8図の如くであつた。

カゼインよりは劣るが無添加に比し明かに附着効果は認められる。

綜　　括

魚類白子の農薬用展着剤としての利用に関し実験を行つた。

1) ボルドー液の懸濁性は鰊，鮫白子は市販大豆展着剤より優秀で，鱈は大豆に劣るが無添加物より良好である。

2) ボルドー液に魚類白子を添加すると附着力は市販大豆展着剤及無添加物より良好である。

3) 砒素剤に於てはカゼインに劣るが，無添加物よりはるかに附着力良好である。

以上の結果魚類白子は農薬用展着剤として充分使用可能と認められる。

本研究は高岡道夫教授が昨年 10 月急逝後は中村幸彦教授の御指導，御鞭撻によつたものである。研究費の一部は文部省科学試験研究費を使用した。又実験の一部を行つた春田巌男，田元馨の両氏に厚く謝意を表する。

文　　献

1) 高岡，中村：日本水産学会講演，昭 20. 4.
高岡，石原，岡藤：日本水産学会講演，昭 23. 4.
高岡，石原，辻野，春田：　〃　昭 25. 4.
中村，辻野，田元：　〃　昭 26. 6.
2) J. Callen, J. A. Handerson: *Analyst*, **54**, 650 (1929).
内藤多喜雄："有機試薬による分析法", 127 (昭 19).
3) Pharmacopoeia of U. S. A., 581 (1916).
内海響一郎："砒素 (無機化学全書)", 73 (昭 25).

海獣インシュリンに關する研究—II*

高岡道夫・石原義雄
斎藤　要・横山　彰
（北海道大学農学部水産化学教室）

Studies on Insulin of the Marine-Mammals II.

Michio TAKAOKA　Yoshio ISHIHARA
Kaname SAITO　and　Akira YOKOYAMA

In the previous work we reported about the pancreas of Seals, Fin whales, and Sperm whales in Hokkaido as resources of insulin.

Afterwards we studied on the insulin of the Lesser rorqual *Balaenoptera acuto-rostrata* LAC., Killer whales, *Orcinus rectipinna* COPE, and Beaked whales *Berardius bairdii* STEJENGER in Hokkaido (Table 1 shows yields and effects of their insulin), improved the extraction of insulin by the acetone method and examined the relation between solubilities and effects of insulin picrates (Table 2), fractional precipitates of insulin by salting out (Table 3), and Antiinsulin (Fig. 1).

畜産物の乏しい我国に於てはインシュリン資源として陸上哺乳動物の膵臓は余り問題とされない，魚類の「ランゲルハンス」氏島が専らこの工業の原料とされ又種々報告[1] もある所であるが，我々は先に北海道近海に於て捕獲される水産哺乳動物の膵臓がインシュリン資源となり得る事を報告した。[2]

今回更に新しく追加試験を試みたので，此処に其の結果の一部と海獣インシュリンピクリン酸塩の溶解性と効力，塩析による分別沈澱と其の効力との関係及び海獣インシュリンに混在する血糖上昇性物質に就て報告する。

I. 試　　料

試料は何れも昭和 23 年 4 月北海道網走沖に於て捕獲せるものである。

a) こいわしくぢら *Balaenoptera acuto-rostrata* LAC. 死後約 11 時間経過，平均膵臓重量 5.4 kg.

b) しやち *Orcinus rectipinna* COPE. 死後約 15 時間経過，平均膵臓重量 3.5 kg.

c) つちくぢら *Berardius bairdii* STEJNEGER. 死後約 14 時間経過，平均膵臓重量 5.0 kg.

小型鯨類の鮮度は其の捕鯨法（小型鯨船は多く日帰り）より極めて良好で，寒冷な気温（4 月）を考慮に入れ有力なインシュリン資源と思われる。

II. インシュリン抽出

第一報に於ては DUDLEY[3] 等のピクリン酸法と SCOTT, BEST[4] 等の塩酸酸性酒精法に従つて行つたが，何れの方法によるも酒精，アセトンの大量を要し，且之等混合溶媒の回収は種々困難を伴う故に塩酸酸性酒精法に準拠して，今回は新たに一貫してアセトンを使用する塩酸酸性アセトンによる方法を試みた。之の一般的な抽出の要点は，採取試料を細切し，アセトン 75 容，水 25 容，濃塩酸 1.5 容の混液中に投入し抽出液を

1951 年 10 月 1 日受理

* Contribution No. 138, from the Department of Fishries, Fac. of Agr., Hokkaido Univ., Sapporo, Japan.

アンモニアにてアルカリ性とし析出物を除き塩酸にて pH2 とし 35°C で減圧下にアセトンを除いた残液に無水アセトン又は食塩或は硫安を加えると有効成分の沈澱が得られる。一夜放置後沈澱を集め油脂溶剤で洗滌し，真空乾燥して粉末とする。斯くする時はピクリン酸を使用せぬ為アセトン脱水によつて組織が脆弱化し，従つて磨潰が容易となり以後の操作も容易でインシユリン収量も良好であるが，効力は稍々減少した。然し乍ら酒精を使用せぬ為低温処理が可能で従つて溶媒の損失少なく経済上極めて有効な方法と考えられる。

又粗インシユリンの精製法としては種々検討した結果 DUDLEY[5] 法に準じインシユリン塩酸塩酒精溶液をアンモニアでアルカリ性とし析出する沈澱を遠心分離で除き，塩酸で pH 2 とし低温（35°C 前後）減圧下に酒精を除いた残液に無水アセトンを加えインシユリンを析出せしめる方法によつた。

Ⅲ. 力価の測定

MARKS[6] 法及び Toronto Ⅱ[7] 法に準拠して行い，血糖定量は HAGEDORN-JENSEN[8] 法によつた。以下第一報の如くして注射液を調製した。

斯くして得られたインシユリン製品の収量及びその効力は Table 1. に示す。

Table 1. Yields of insulin from some marine-mammalian pancreas.

Name of marine mammals	Averge weight of pancreas	Yield of insulin	Effects (Total)	
Lesser rorqual	5.4 kg.	0.75 g./kg.	3.0 i.u./mg.	2250 i.u./kg.
Killer whale	3.5	0.82	2.2	1800
Beaked whale	5.0	0.92	2.1	1930

即ち第一報の大型鯨類と比較する時は製品 mg 当りの効力に於ては稍々劣るも，各試料共膵臓 kg 当りの収量は 2 倍以上にして絶対量に於ては優つている。

更に医療用として前述の精製法を繰返せるインシユリンは 10～15 i.u./mg を示した。

Ⅳ. インシユリンピクリン酸塩の溶解性と効力

インシユリン抽出に当りピクリン酸法による場合減圧蒸溜後インシユリンピクレートが得られるが，このピクレート中には勿論インシユリン以外のピクレートも混在するもので，今海獣インシユリンピクレートを塩酸酸性アセトン（1規定塩酸 20 分，アセトン 80 分）溶解に際し其の溶解度より易溶（ピクレート 1 g に対し酸性混液 15～20 cc で溶解せる部分），難溶（易溶部分を除去後更に酸性混液 30～40 cc 加え 30°C に加温して溶解せる部分），不溶（難溶部を除去せる残渣）の各部に分けて，この三区分の割合及び其の分別後の各部の効力を Table 2 に示す。

Table 2. Solubilities and effects of insulin picrates.

Fraction	Rate	Effects
Easily soluble parts	89 %	2.6 i.u./mg.
Hardly soluble parts	8	0.8
Insoluble parts	3	0

即ち難溶性ピクレートはインシユリン以外の物質のピクレートが主成分となるものと考えられ，之よりインシユリンピクレートの溶解に用いる酸性混液は少量用いて，難溶性のピクレートの混在を防ぐと好結果の得られる事がわかつた。

Ⅴ. インシユリンの塩析による分別沈澱と其の効力

海獣インシユリン 500 mg を 20 cc の蒸溜水に溶解し，食塩及び硫安を用い，其の飽和度を異にした場合

析出する沈澱の収量及び其の効力を検定した結果は Table 3. の如くである。

Table 3. Effects of fractional precipitation of insulin by salting out.

NaCl	Rates of ppt.	Effects	$(NH_4)_2SO_4$	Rates of ppt.	Effects.
4/6 sat.	5 %	0.78 i.u./mg.	2/6 sat.	2 %	0 i.u./mg.
5/6 sat.	12	2.1	3/6 sat.	55	3.4
sat.	71	2.7	4/6 sat.	22	2.6
Non-withdrawal	12	0	Non-withdrawal	21	0

上記の如く食塩によるインシユリンの分別沈澱は飽和度附近で其の大部分が沈澱するが，其の効力の上昇は余り認められず，且 4/6 飽和の析出部は血糖降下の持続作用が飽和部よりも大で，市販インシユリンに比し約2倍の 10 時間の持続性を有する。之は興味のある事実で共存物質の影響と考えられる。之に対して硫安を使用した時は半飽和附近で最も多量に析出するが，5/6 以上の飽和にする時は沈澱に硫安が混じて析出する恐れがあり，硫安それ自身は血糖上昇作用を有する故注意を要す。即ち硫安の場合は半飽和で精製の目的を達する事が判明した 。

Ⅵ. 粗インシユリン中の血糖上昇性物質

海獣インシユリン精製の際酒精洗滌の洗液は黒褐色となり，それをアセトン中に投入すると褐色の沈澱が得られる。尚本物質はベンゾールにも溶解し，水には極めて良く溶解する。本物質の水溶液をアンモニアでアルカリ性にし，生ずる沈澱を濾別し減圧蒸溜後アセトン中に投ずると吸湿性の褐色沈澱が得られる。又本物質はその 50 %酒精溶液に酒精 1 容を加える時良く沈澱する。種々の呈色反応及び沈澱反応の結果よりアミン体ではなく，一種の蛋白質と考えられ，本物質を 3 mg/kg 皮下注射した時家兎は注射1時間後烈しく痙攣を起し，血糖量は Fig 1. の如く 2 時間で約 50 %上昇を示した。

尚膵臓中の血糖上昇性物質に関しては既に FISCHER[9]，GEILING[10] 等の発表があるが，之等の物質との関係に就ては目下検討中である。

Ⅶ. 血糖降下作用に対する考察

海獣インシユリン注射後の血糖降下作用に就て，第一報に於ては抹香鯨インシユリンの特異性の存否に就て言及したが，今回抽出した小型鯨のインシユリンを第一報の抹香鯨インシユリンの血糖降下作用と比較する時は Fig 1 の如くである。

（尚槌鯨，鯱の血糖曲線も小鰮鯨と大同小異ゆえ，図の混雑を防ぐ為省略した。）

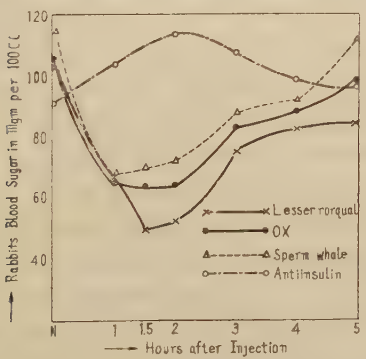


Fig 1. Blood suger curves following injection of some insulin.

図に示す如く小型鯨インシユリンは一般に注射後急激に血糖は降下し，其の後血糖降下の持続性も大である。之等の血糖曲線は，食塩分別沈澱の場合に述べた如くインシユリン自身の作用以外に其の精製程度により共存する物質にも少なからぬ関係を有する事は考慮しなければならぬが，精製程度同様なる製品に就ての以上の比較結果より一応の持続性は認られる事と考える。

本研究は昨年高岡教授急逝後，中村幸彦教授の御導御鞭撻によるものである。又生理試験に関し種々御便宜を賜つた北海道大学医学部真崎教授，田辺助教授，高橋医学士に厚く感謝する。（本研究は文部省科学研究費に依る。併せて感謝の意を表する。）

文　献

1） 荒川：日水誌 **15**，402（1949）；
末松：水誌報 **11**，121（1940）；
遠山：農化誌 **17**，905（1940）；
長沢・近藤：薬学雑誌 **62**，287（1942）.

2） 高岡・斎藤・横山：日水誌 **14**，302（1549）.

3） H. W. Dudley: *Biochem, J.*, **18**, 665 (1924).

4） C. H. Best & D. A Scott: *J. Metabolic Research*, **3**, 177 (1923).

5） H. W. Dudley, W. W. Starling: *Bioch. J.* **18**, 147 (1924).

6） H. P. Marks: *Brit. Med. J.*, **2**, 102 (1925).

7） The Insulin Committee of the Univ. of Toronto: Biol.. stand. **1**, 24.

8） H. C. Hagedorn, B. N. Jensen: *Biochem. Z.*, **135**, 46 (1923).

9） N. F. Fischer: *Am. J. Physiol.* **67**, 57 (1923); *J. Am. Med. Assoc.* **2**, 920 (1923); L. G. 220.

10） E. M. K. Geiling et al.: *J. Pharm. Exp. Therap.* **39**, 269 (1930).

深海産鮫類肝油の利用に関する研究—II. 炭化水素の定量法について

東　秀雄　金子徳五郎　杉井麒三郎

（東海区水産研究所）

Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks—II. The Determination of Hydrocarbons

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

Squalene is contained in gross amounts in the liver oil of sharks living at the bottom of the deep sea. In the previous report[1] the characteristics of squalene have been discussed to make use of it for an antifreezing lubricant. Few reports have dealt with the hydrocarbon content in the liver oil in regard to the questions that how it fluctuates depending on species, seasons and areas, and that what physiological function it has in the body of sharks. To throw a light on these questions we have made an attempt to determine the squalene content in the liver oil of different species of sharks. TSUJIMOTO, FITELSON and others reported about the determination of hydrocarbons in oils.

To establish an accurate determination of the squalene content, we have tested the method in common use.

The following is essential information of and the results obtained from the method adopted by us and examined under various conditions.

Experiment:

The materials used in this experiment are as follows:

Squalene——distilled (250～255°C./5mm.) the liver oil of the deep sea shark, ***Dalatias***, and redistilled (250～255°C./5mm.), added metal Na to remove alcohols in the sample. Iodine number 350～400, determined by the ROSENMUND-KUHNHENN method, halogen excess 50～80%. We shall report about the iodine number of squalene in the next report. Refractive index (40°C.) 1.4890; Molecular weight 412.

Alumina——made by Nihon Aluminium Co. Ltd., a greater portion of this active alumina was 150-200 mesh.

Petroleum-ether——made by Japan Petroleum Co Ltd., refined and distilled below 60°C.

Japanese acid clay——made by Kugita Medical Co. Ltd., raised into 80～150 mesh by us

1953年1月14日受理　東海区水産研究所業績B第93号（印刷費負担）

for easy handling.

Column——the column used in the experiment is shown in Fig. 1.

i) Adsorption by alumina

The weight of alumina, a sample for the test, volume of petroleum-ether, and sizes of the columns have been examined in a way prescrived below. Put the weighed sample in the flask A (contents 10cc.) to dissolve it by 5cc. of petroleum-ether, and plug some absorbent cottons at the bottom of the column. While pressing the bottom with a finger, pour petroleum-ether in a sufficient amount for soaking alumina. Next, put slowly in the column a definite amount of alumina to let it settle evenly, before connecting the weighed flask B with the cork of the column. Let petroleum-ether pass throngh the alumina down to the flask B until the liquid remains 2 mm high above the alumina when to fill the dissorlved sample into the column. Washing traces of the sample in the flask A with another 5 cc. of petroleum-ether, pour the liquid remains 2 cc. high above the alumina. Repeat this treatment until all the definite amount of petroleum-ether, expect that used first for soaking the alumina, has been filled in the column. After the last 5 cc of liquid drops down, put out the flask B from the cork to evaporate a greater part of petroleum-ether on the water bath, and remove the last trace of the solvent on the glycerine bath in vacuum at 110°C. for 15 minutes. After cooling, the matter passed through the alumina, which is suppose to be hydrocarbon, is weighed.

Test a) When weight of the sample varied.

Using different amounts of the sample, the matter passed through the layer of alumina by the method mentioned above is weighed. From the result shown in Table 1 it became evident that the value of the passed matter is almost constant so far as weight of the sample ranges from 0.19 to 1.36 grs..

Test b) Duplicate examination of the hydrocarbons obtained in ***test a.***

The hydrocarbons obtained from the ***test a*** were examined again with 6 grs. and 3 grs. of alumina respectively. Repeat the procedure discribed in the section until the passed hydrocarbons are weighed for the second time. The result is indicated in table 2. The values of the passed matter are all higher in the ***test b*** than those in the ***test a.*** This is supposed due to the presence in squalene of something to be adsorbed by alumina.

Test c) The mixture of hydrocarbons and alumina adsorbable metters in unsaponifiable matter of the ***Squalus*** liver oil.

Saponify the liver oil of the dogfish, ***Squalus Suckleyi***, which contains little squalene, so as to extract unsaponifiable matter by ether. When petroleum-ether solution of unsaponifiable matter has passed through the column of alumina, the passed matter was only about 1 per cent. Eluate the alumina, using methanol-ether (1 : 1). Separate the adsorbable matter by eluation and remove the solvent, then mix it with the squalene passed through the column of alumina. Transfer this mixture to the adsorption tube. The result is indicated in Table 3. The added squalene has almost passed through the column. On the condition established by us, the alumina adsorption can be used as the determination of hydrocarbon contents, we supposed.

Test d) Volume of petroleum-ether.

From the unsaponifiable matter of the liver oil of various species of sharks, the hydrocarbons have been determined by our method. In addition the volume of petroleum-ether has been examined to find an effective amount of the liquid to be used for the determination. Almost whole hydrocarbons could be passed through with 30 cc. of petroleum-ether, as shown in Table 4.

Test e) The size of column and the volume of alumina.

Table 5 shows the result obtained when column with various diameters and lengths were used. In the cases of the columns D and E which had small diameters, the passage of the sample was difficult. The column C is too little, and the column A too large, for holding alumina in them. In the following examination we used the column B (0.9×25cm, for 4grs. of alumina).

ii) Adsorption by Japanese acid clay.

In place of alumina, we examined Japanese acid clay which has a strong adsorbable property, to see if it could be used for the hydrocarbon determination.

The methods employed were almost same as those for alumina.

Eventually, it was found that the acid clay adsorbs the acidified or polymerized hydrocarbons more than does alumina. For this reason the acid clay is supposed unsuitable to be used for the adsorbent in the hydrocarbon determination as compared with alumina. The details are described in the Japanese text.

On the basis of the above examination, we decided the method to determine the hydrocarbon contents in oils as follows:

Weigh accurately ca. 5 grams of oil into a 200 cc. Erlenmeyer flask, add 2.5 times of calcurated volume of 2N-KOH solution containing 90% alcohol, and boil the mixture under an air condenser for 30 minutes on the water bath, shaking sometimes. After saponification, add water so as to let the ratio of alcohol to water stand 4 : 1, and transfer to a separator. Add 150 cc. of ether and shake vigorously, allow the two layers to separate compeetely, and slowly draw off the soap solution. Pour the soap solution into the other separator and extract the unsaponifiable matter with 100 cc. of ether 4 times.

Put all the extracted ether solution together and wash it by 20 cc. of water once, and then by 20 cc. of 2N-KOH solution containing 10% alcohol 4 times. At last add 10% HCl and wash, acidify, and wash the ether solution with the water until the Cl-reaction vanishes. After the dehydration of the ether solution by Na_2SO_4, remove the ether by evaporation and weigh the unsaponifiable matter.

Weigh accurately ca. 0.2 gram (±50 mgs.) of the unsaponifiable matter into a 10 cc. Erlenmeyer flask A, add 5 cc. of petroleum-ether and dissolve completely by shaking. Plug an absorbent cotton at the bottom of the column (0.9×25 cm.) as indicated Fig. 1, press the bottom with a finger and pour 15 cc. of petroleum-ether and fill ca. 4 grs. of alumina evenly, then connect the balanced flask B with the cork. When petroleum-ether drops down the flask B, keeping the surface of the column covered with liquid, fill into the column the dissolved sample flask A. Again fill 5 cc. of petroleum-ether into the flask A, shake and wash the trace

of sample. Wash the flask A 5 times, and fill the wash liquid into the column, always keeping the surface of the column covered with liquid. When a total volume of 30 cc. of the liquid has passed through the adsorption tube, and the last solution dropped down, put out flask B from the cork, evaporate the greater part of petroleum-ether on the water bath, and remove the last traces of the solvent on the glycerine bath in vabuum at 110°C. After cooling, balance the matter passed through the adsorption tube. This is supposed to be the hydrocarbon.

iii) Comparison of ours with the others methods.

Using the liver oil of the Kurokozame, *Etmopterus* sp., (I. no. 167. 8, n_D^{40} 1. 4691, d_4^{15} 0. 8927), our method has been compared with the other methods (FITELSON, TSUJIMOTO) to detected the squalene contents (Table 2). As shown in Table 2 every value obtained is nearly similar with each other accidentally. However, a small quantity of hydrocarbons could not be taken from the residue by the methods except ours.

The extraction of the unsaponifiable matter from liver oil was very difficult in the Fitelson method.

1. 緒　言

著者等は前報[1]に於て深海産鮫類肝油中に多量に含まれる squalene に就てこれら鮫肝油より工業的に耐寒性潤滑油の製造を可能ならしめる為に必要な事項の調査研究結果を報告した。それらの鮫類が種類或は漁期,漁場等により肝油中の炭化水素の含量が如何に変化するか,又炭化水素が魚体内に於て如何なる生理作用を有するかに就ての研究は少い。著者等はそれらを明かにする為に先づ，諸種の鮫類肝油中の炭化水素の量を測定せんとした。油脂中の炭化水素の定量法に於ては辻本[2),3)], FITELSON[4)] の報告がある。辻本は多くの深海産鮫肝油を減圧蒸溜して溜出物を粗 squalene として定量した。又同氏は肝油を鹼化して石油エーテルにて抽出して得た不鹼化物を粗炭化水素として定量している。

FITELSON はオリーブ油その他の植物油脂を鹼化して石油ベンヂンにて抽出して得た不鹼化物をアルミナ層を通過せしめ，通過した物の量を秤り，且つその通過物の沃素価を測定し，その中の squalene 量を算出する方法を採用している。FITELSON 氏の方法は A. O. A. C. 法* として採用せられている。この方法により各種の油脂中の squalene を定量した報告は多い。[5)]

著者等は正確な炭化水素量を求める必要上従来の炭化水素の定量法を吟味し，著者等の炭化水素定量法を定めた。

実　験　の　部

1) 実験に用いた squalene，試薬，装置。

本実験に用いた squalene，試薬，装置は次の如くである。

a) squalene

焼津産深海産鮫ユメザメ *Centroscymnus owstoni* 及びヘラツノザメ *Deania sp.* の混合肝油を約 250～255°C で減圧 (5mm) 蒸溜し更に金属ナトリウムを加えて 250～255°C (5mm) で再び減圧蒸溜したものである。この squalene は次の性質を有する。

沃素価　臭化ピリヂン法 (Halogen 過剰率 50～80%) により測定すれば 350～400 の価を示す。(squalene の沃素価に就ては次報に詳しく述べる。)

屈折率　n_D^{40} 1. 4890

* The Association of Official Agricultural Chemist.

分子量　412（氷点降下法）

b)　アルミナ

日本アルミ株式会社製活性アルミナで大部分 150～200 mesh のものである。

c)　酸性白土

久木田薬品株式会社製酸性白土に吸水せしめ，乾燥後 80～150 mesh の粗粒を作つて用いた。

d)　石油エーテル

日本石油株式会社製の石油エーテルを硫酸第一鉄，硫酸混合水溶液で洗滌し次に 10% 苛性ソーダ水溶液で洗滌したものを蒸溜して沸点 60°C 以下のものをとり，これを無水硫酸ソーダで脱水して用いた。

e)　吸着装置

吸着装置は Fig. 1 に示す如く吸着剤入りの column（吸着管）と受器及びそれらを接続するコルクより成る。column の内径，高さは実験の都度明示した。

2）アルミナによる吸着に関する吟味

アルミナによる吸着に関してアルミナの量，試料の量，石油エーテルの量，column の大小に就て次のような方法で吟味を行つた。

試料を内容量 10cc の三角瓶にとり 5cc の石油エーテルに溶解せしめておく。次に column の底に脱脂綿をつめ，column の底を指頭で抑え上から所定量のアルミナを完全に浸すに充分な量の石油エーテルを入れる。次に column の石油エーテル中に所定量のアルミナを少量宛落して平均したアルミナ層を形成せしめる。アルミナ層が沈着した後，予め秤量した受器をコルク栓の部分に接続せしめる。

column 中の石油エーテルが受器中に落下し，アルミナ層の上の石油エーテル層が約 2mm の薄層となるに到つた時，予め 5cc の石油エーテルに溶解した試料を column に注ぎ入れた。入れた後，前述の三角瓶に 5cc の新しい石油エーテルを入れておく。試料の石油エーテル溶液が受器に落下して，アルミナ層の表面に石油エーテル溶液が薄層として残る中に，予め三角瓶に入れておいた石油エーテルを注ぎ入れ，この操作をくり返す。所定量* の石油エーテルを入れ終つたならば受器に石油エーテルが滴下しなくなるのを待つて受器をとり外し，重湯煎上で石油エーテルを大部分蒸発せしめ，次に 110°C のグリセリン浴上で減圧にて 15 分間加熱し，痕跡の石油エーテルを完全に蒸発せしめる。室温迄冷却後秤量し，アルミナ層通過物の量を測り，これを炭化水素の量とする。

a)　試料の量を変えた場合

アルミナ 6g，石油エーテル 45cc を用いて squalene の量を変えて通過物の量を測定した結果は Table 1 の如くであつた。column は内径 0.9cm，高さ 25cm のものを用いた。

Table 1.　Weight variation of hydrocarbon obtained by passages through alumina.

Test No.	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %
1	1.3595	1.2725	93.6
2	1.1395	1.0575	92.8
3	0.5087	0.4746	93.3
4	0.4930	0.4560	92.5
5	0.2457	0.2285	93.0
6	0.1945	0.1801	92.6

(Used alumina 6 grs., petroleum-ether 45 cc., column 0.9×25 cm).

* 以下述べる石油エーテルの量とは最初 column にアルミナを入れる為に用いた石油エーテル以外の石油エーテル使用量を云う。

即ち試料の量は略 0.19～1.36 g の範囲内では，大体一定の値を示す。

b) アルミナ層を通過した炭化水素を更に新規のアルミナ層を通過せしめる場合

Table 1 の実験に於て通過した炭化水素を試料とし，アルミナの量を 6g 及び 3g として行つた結果を Table 2 に示す。石油エーテルの量はいずれも 45cc である。column は内径 0.9cm，高さ 25cm のものを用いた。

Table 2. Weight variation of hydrocarbon obtained by duplicate passage through alumina*.

Test No.	Alumina g.	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %
1	6	0.1116	0.1100	98.6
2	6	0.1392	0.1364	98.0
3	3	0.1306	0.1288	98.6
4	3	0.1527	0.1515	99.2

*The hydrocarbon obtained as Table 1 is made to pass again through a new column of alumina, using petroleum-ether 45cc., column 0.9×25cm.

Table 1 と Table 2 との結果を比較すると，Table 2 の結果がいずれも高い。これは squalene 中にアルミナに吸着される物質が存在する為であろう。

c) 炭化水素と炭化水素以外の不鹼化物との混合物を試料とした場合

炭化水素を殆ど含まないアブラツノザメ *Squalus suckleyi* の肝油（福島県小名浜産）を鹼化し，これよりエーテルにて不鹼化物を抽出し 2N 苛性加里溶液 10% 酒精溶液で洗い塩酸々性とした後水洗し，エーテル溶液を脱水後エーテルを除いて不鹼化物を得た。この不鹼化物を 2) の冒頭に示した方法でアルミナを通過せしめた処，吸着せずに通過せるものは不鹼化物の 1% 内外であつた。アルミナ層に吸着しているものをメタノールエーテル (1 1) 混合液で溶出した。この溶出物より溶剤を除いたもの（炭化水素以外の不鹼化物）と一度 column を通過した squalene 一定量とを混合したものを試料としアルミナ 6，石油エーテル 45cc を用いて column（内径 0.9cm，高さ 25cm）を通過せしめた処 Table 3 の如くであつた。

Table 3. Weight variation of hydrocarbon passed through alumina when the mixture of hydrocarbon and other unsaponifiable matters used for the sample.

Test No.	Sample g.	Hydrocarbon in sample g. (a)	Passed matter g. (b)	b/a×100
1	0.1979	0.0911	0.0911	100
2	0.1552	0.1060	0.1056	99.6

(Used alumina 6g., petroleum-ether 45cc., column 0.9×25cm.)

Table 3 の結果に見る如く添加 squalene は殆ど回収せられており，従つて我々の定めた条件下に於てアルミナ吸着法を行えば炭化水素の定量的方法として用い得ることがわかる。

d) 石油エーテル量を変えた場合

二，三の鮫肝油に就て上記の方法でアルミナ吸着法を実施し，その際併せて石油エーテルの量に就ての吟味を行つた。石油エーテル量は 45cc 用いたが column を通過せる石油エーテル溶液の初めの 30cc と残りの 15cc を別々の受器にとり各別に通過物の量を測定した。試料はいずれも (c) のアブラツノザメ肝油と同様にして不鹼化物を採取した。column は内径 0.9cm，高さ 25cm のものを用いた。

Table 4 に見る如く石油エーテル量は 30cc で炭化水素は殆ど全部 column を通過する。

e) column の大きさとアルミナ量を変えた場合

Table 4. Weight variation of hydrocarbon passed through alumina when petroleum-ether decreased.

Name of sample	Weight of sample g.	Passed matter g.		Passing ratio %
		A	B	
Liver oil of	0.2255	0.2152	0	95.6
Dalatias sp.	0.2007	0.1905	0	94.9
Liver oil of	0.2519	0.1063	0	42.3
Heteroscymnus	0.2241	0.0933	0	41.3
Liver oil of	0.2311	0.1767	0	76.4
Deania sp.	0.2509	0.1903	0	76.9
Liver oil of	0.2132	0.1775	0	83.2
Centroscymnus	0.1982	0.1635	0	82.7

(Used alumina 6 grs., petroleum-ether 30cc. in fraction A; 15cc. of the liquid used in fraction B after ending fraction A, column 0.9×25cm.)

column の内径，長さと内容のアルミナの量とを変えて吟味を行つた結果を Table 5 に示す。試料肝油はクロコザメ（*Etmopterus sp.*）の肝油で前の油鮫肝油と同様にして不鹸化物をとつてそれを用いた。石油エーテル量はいずれも 30cc を用いた。

Table 5. Weight variation of hydrocarbon passed through various sizes of the columns.

Column	Size of Column		Alumina g.	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %
	Inner diameter cm	Length cm				
A	0.9	25	7	0.1046	0.0531	50.8
				0.1080	0.0551	51.2
B	0.9	15	4	0.1190	0.0605	50.9
				0.1087	0.0556	51.2
C	0.9	5	1	0.1439	0.0763	53.3
				0.1237	0.0651	52.6
D	0.6	25	4	0.1199	0.0609	50.8
				0.1248	0.0628	50.3
E	0.3	25	2	0.1015	0.0520	51.2
				0.1104	0.0565	51.2

(Used petroleum-ether 30cc., sample, unsaponifiable matter of *Etmopterus liver oil*)

Table 5 の D 及び E は column が夫々細過ぎて石油エーテル溶液の通過に長時間を要する。又 C はアルミナ量が少く吸着が不充分の恐れがある。従つて A 又は B が適当と考える。その中 B の方がアルミナ量が少くて済むので B を採用することとした。以下の実験では B 即ち内径 0.9cm，長さ 25cm のガラス管に 4g のアルミナを収容した column を用いる。

3) 酸性白土を吸着剤とした場合の吟味及び吸着剤としての酸性白土とアルミナの比較

酸性白土が吸着力の強いものであることはよく知られているが，これをアルミナと同様に炭化水素の定量に用い得るかどうかを吟味した。吟味の方法は（2）に於て述べたアルミナの場合と同様である。

a）石油エーテルの量を増した場合

酸性白土を 6g，試料を約 0.2g とし，内径 0.9cm，長さ 25cm の column を使用し石油エーテル量を変えて通過量を測定した結果を Table 6 に示す。

Table 6. Weight variation of hydrocarbon passed through Japanese acid clay with various amount of petroleum-ether.

Test No.	Petroleum-ether cc.	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %	Average %
1	30	0.2152	0.2066	96.0	96.1
		0.2037	0.1949	95.7	
		0.1986	0.1920	96.7	
2	50	0.2005	0.1933	94.4	96.5
		0.2132	0.2081	97.6	
		0.2167	0.2071	95.7	
3	70	0.2236	0.2164	96.8	96.8
		0.2018	0.1933	95.8	
		0.1957	0.1920	98.1	

（Used acid clay 6 grs.，column 0.9×25cm.）

石油エーテルの使用量は 30cc の場合も 70cc の場合も同様である。故に以下の吟味の場合，石油エーテル量を 30cc と定めた。

b）酸性白土の使用量を変えた場合

石油エーテル使用量を 30cc とし squalene を約 0.2g として，酸性白土の使用量を増減して，その通過物の量を測定した結果を Table 7 に示す。使用した column は内径 0.9cm，長さ 25cm のものである。以下酸性白土に用いる column はこれと同型のものである。

Table 7. Weight variation of hydrocarbon passed through various amounts of Japanese acid clay.

Test No.	Acid clay g.	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %	Average %
1	1	0.2036	0.2034	99.4	99.4
2	2	0.2183	0.2157	98.8	97.2
		0.2214	0.2119	95.7	
3	3	0.2108	0.2011	95.4	96.2
		0.2246	0.2156	96.0	
		0.2085	0.2027	97.3	
4	4	0.1932	0.1866	96.6	96.0
		0.2125	0.2027	95.4	
5	6	0.2231	0.2135	95.7	96.1
		0.2183	0.2111	96.7	

（Used petroleum-ether 30cc.，column 0.9×25cm.）

Table 7 に於て酸性白土の量は 3～6g で通過物量が略恒量であるから以下の吟味の場合は使用酸性白土

量を 4g とした。

c) 吸着剤としてのアルミナと酸性白土の比較

アルミナと酸性白土とを夫々吸着剤として squalene 約 0.2g を用いて比較した結果を Table 8 に示す。

Table 8. Weight comparison of hydrocarbon passed through alumina with that passed through Japanese acid clay.

Adsorbent	Sample g.	Passed matter g.	Passing ratio %
Acid clay	0.2178	0.2121	97.4
	0.2215	0.2162	97.6
Alumina	0.2250	0.2195	97.5
	0.2132	0.2086	97.7

(Used adsorbent 4 grs., petroleum ether 30cc., column 0.9×15cm.)

第8表に見る如く，酸性白土も適当な条件に於てはアルミナと略々同様に使用出来ることが判る。又バチルアルコール，セラキルアルコールの吸着に就ての吟味を行つた結果，両者共酸性白土及びアルミナのいずれも殆んど吸着されてしまうことを確めた。

次に酸性白土の入つた column を一度通過させた squalene の量を測定し，その squalene を更に新しい酸性白土の入つた別の column を通過させた場合と，アルミナの入つた column を一度通過させた squalene の量を測定し，その squalene を更に新しいアルミナの入つた別の column を通した場合とを比較した結果を Table 9 に示す。

Tabl 9. Weight variation of hydrocarbon obtained by duplicate passages through alumina and the acids clay (The hydrocarbon obtained as Table 8 has been made to pass again through new columns of alumina and the acid clay respectively).

Adsorbent	Sample (A) g.	Weight of hydrocarbon: When passed once (B)	Weight of hydrocarbon: When passed twice (C)	B/A	C/B	C/A
Acid clay	0.2178	0.2121	0.1650	97.4	77.7	75.7
	0.2215	0.2162	0.1676	97.6	77.4	75.7
Alumina	0.2250	0.2195	0.2180	97.5	99.3	96.9
	0.2132	0.2086	0.2077	97.7	99.5	97.4

Used adsorbent 4 grs., petroleum ether 30cc., column 0.9×15cm.)

第9表に於て二度通過せしめたものを更に新しい酸性白土の入つた column を通した処，2回通過した量の 80% を通過せしめたのみであつた。これは溶剤除去（加熱），放置等の為に squalene が酸化分解，重合して，その生成物が白土に吸着されたものと考えられる。この点を明にする為アルミナ層を通して精製した squalene 約 3g を内容 10cc の三角瓶にとり，栓をせずに室内に（15～20°C）に放置し3日後，4日後，6日後の重量を測定，その一部を取つて屈折率を測定し，且酸性白土入りの column を通過せしめ，その通過量を測定した。その結果を Table 10 に示す。

Table 10 に見る如く，時間の経過と共に，酸性白土層を通過する量が減少して行くことが確かめられた。これは酸化或は重合による生成物が酸性白土に吸着される為と考えられる。

従つて飽和炭化水素 squalene の場合は酸性白土入りの column を一度通過せしめた squalene の量を測定し，更に新しい酸性白土入りの column を通過せしめても通過量は変化しない筈である。これを確かめ

Table 10. Weight variation of squalene left open to air, and later passed clay.

Number of day	Weight index* of squalene	Refractive index n_D^{40}	Index* of passing ratio
0	100	1.4888	100
3	100.6	1.4889	95.7
4	100.9	1.4894	87.5
6	101.7	1.4895	85.5

*Calculated on the basis of the first day as 100.

た処1回目及び2回目の通過量は殆んど変らなかつた。

以上の点より酸化され易い不飽和炭化水素を多量に含む試料の定量には吸着剤として酸性白土を使用することは多少問題があるが，使用条件を更に吟味すれば充分使用出来るであろう。尚不飽和炭化水素の精製剤としては酸性白土はアルミナより優れていることもこの実験でわかる。

我々は本研究に於ては吸着剤として酸性白土を使用することは一応保留して，アルミナを用いることにした。

4）著者等の定量法

以上の吟味に基いて著者等は炭化水素の定量法を次の如く定めた。**

供試油約 5g を精秤し，これに 2N 酒精加里溶液を理論量の 2.5 倍加え，冷却器を附して湯煎鍋上に時々振盪しつゝ 30 分間加熱する。鹼化完了後，鹼化液に水を加え，その中のアルコールとの比が 1：4 になる様にする。

この鹼化液を，分液濾斗に移しエーテル 150cc を加えて振盪し分離した石鹼液は，別の分液濾斗に移し，更に 100cc 宛のエーテルで4回抽出し，各抽出液は全部合し最初 20cc の水，次に 10% のアルコールで作つた 2N 苛性加里液 20cc 宛で4回洗滌した後，10% 塩で酸性となし次に，酸液を除きエーテル溶液を水で塩素の反応がなくなる迄洗滌する。斯くして得た不鹼化物のエーテル溶液を，無水硫酸ソーダで脱水後，エーテルを蒸発し去つて不鹼化物を秤量する。この不鹼化物の約 0.2g を内容 10cc の三角瓶に精秤し 5cc の石油エーテルを加えてよく振盪して完全に溶解させておく。別に Fig. 1 に示す形の内径 0.8～0.9cm，高さ約 15cm のコルク栓を附した column の尾部に脱脂綿を詰め，尾部を指頭にて抑え石油エーテル約 15cc を管内に注ぎ，4g のアルミナを column の頭部より少量宛入れ column 内に一様に詰める。次に手早く予め秤量しておいた受器を，コルク栓の部分を連結する。初めに column に入れた石油エーテルが漸次滴下し，アルミナ層の上の石油エーテル層が約 2mm の薄層となるに到つた時試料の石油エーテル溶液(5cc)を column に注ぐ。三角フラスコは更に 5cc 宛5回洗滌し，夫々アルミナ層の上の石油エーテル層が約 2mm の薄層となるに到つた時中に注加して行く。試料を溶解した石油エーテルの合計が 30cc となつた時，注加を止め，石油エーテルが受器に滴下しなくなつたら受器を外し，湯煎鍋で大部分の石油エーテルを蒸発し去り，次に 110°C のグリセリン溶液で減圧にて 15 分間熱し，痕跡の石油

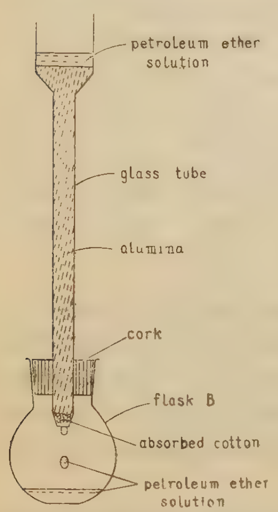


Fig. 1. Diameter of the column used for determination of hydrocarbon.

** この定量法の中不鹼化物抽出の部分は水産試験場報告第7号 209 頁（1936）に於て東が発表している。

エーテルを完全に蒸発せしめる。室温迄冷却後秤量して，アルミナ層通過物の量を測り，これを炭化水素の量とした。

b) 従来の定量法との比較

試料として福島県小名浜産のクロコザメの肝油を用い，この肝油中の炭化水素含有量を我々の方法と FITELSON の A.C.A.C. 法，辻本の 2 つの方法を用いて夫々定量した。

この肝油の沃素価は 167.8(ROSEUMUND-KUHUHENN) n_D^{40} 1.4691 で d_4^{15} は 0.8927 であつた。

i) FITELSON 法—肝油 5.2419g を FITELSON 氏の指示に従つて鹼化し，最初に 150cc 次に 100cc と 2 度に別けて石油ベンヂンで不鹼化物を抽出し，夫々アルミナ入り column を通過せしめた処 21.9% の炭化水素を得た。石油ベンヂンで抽出する際 FITELSON 氏の指示通りに 50cc で抽出を行おうとした処極めて困難だつたので量を増して行つた。

FITELSON 氏はこの炭化水素の沃素価（ROSENMUND-KUHNEENN 法）から squalene 量を算定している。

但し squalene の沃素価に就ては問題があるのでこゝでは算定は行わない。この問題に就ては次報で述べることゝする。

ii) 辻本法(Ⅰ)—肝油 53g を 5mm の減圧下で蒸溜し 250～255°C の溜分をとつた処，13g を得た。これは 24.5% で辻本氏の蒸溜による近似的定量法の値である。この溜出物と残渣から我々の方法で炭化水素を定量した処，溜出物中に原油 100g に対し 18.2g，残渣中に同じく 1.7g の炭化水素を見出した。

iii) 辻本法(Ⅱ)—肝油 5.926g を辻本氏の指示に従つて鹼化し，石油エーテル 150cc にて不鹼化物を抽出した処，粗 1.3326g 即ち 22.5% の不鹼化物を得た。

この値が辻本氏の炭化水素定量法による値である。このものをアルミナ入り column を通すと 86.75% の炭化水素を得た。

iv) 我々の方法—肝油 6.1865g をとりこの中の炭化水素量を我々の方法によつて測定した処，22.77% の炭化水素を見出した。

Table 11 に i),iv) の例をまとめた結果を示した。この結果，近似的の方法として用いるならばどの方法も大差ないが，試料油中の全炭化水素量を正確に測定するには我々の方法が良いと考えられる。

Table 11. Comparison of various methods for determining the hydrocarbon.

Investigator	Weight of Sample g.	Method of extraction	Unsaponifiable matter				Hydrocarbon		
			Weight g.	in oil %	I. no.	n_D^{40}	in unsap. matter %	in oil %	n_D^{40}
TSUJIMOTO	5.9260	Petroleume-ther	1.3326	22.50	267.3	1·4851	86.75	19.50	1.4870
		Ether after p. ether extn.	1.2881	21.72	94.8	1.4640	14.08	3.06	—
		Total	2.6207	44.22	—	—	—	22.50	—
FITELSON	5.2419	Petroleum-benzine (1)	0.9009	17.16	264.0	1.4857	85.80	14.73	1.4870
		Petroleum-benzine (2)	0.6030	11.50	209.7	1.4801	62.60	7.20	1.4873
		Subtotal	1.5039	28.66	—	—	76.65	21.93	—
		Ether after p. benzine extn.	0.7963	15.13	47.2	1.4612	2.36	0.36	—
		Total	2.3002	43.85	—	—	—	22.29	—
HIGASHI	6.1865	Ether	2.7248	44.03	215.9	1.4753	51.73	22.77	—

5) 著者等のアルミナ吸着法を 2～3 の炭化水素につき実施した場合

a) squalane, squalene 重合物及び pristane を夫々アルミナ層を通過せしめた場合

i) 試　料

squalane——squalane は squalene を Raney 触媒を用いて水素添加したもので沃素価 0.28 (Rosenmund-Kuhnhenn 法) 屈折率 n_D^{40} 1.4453 である。

squalene 重合物——squalene 重合物は squalene に酸性白土3% を加え 200～280°C にて 5～10 分間重合せしめたものを Raney 触媒を用いて水素添加にしたもので，沃素価 260.5 (Rosenmund-Kuhnhenn 法) 平均分子量 430.8 である。

pristane—— ウバザメ (*Cetorhinus maximus*) 肝油より外山の方法[5] に従つて減圧分別蒸溜により粗 pristane を得た。この粗 pristane の性状は沃素価 4.9, n_D^{40} 1.4290, 比重 d_4^{15} 0.7837 である。

ii) 方法——各試料を (4) に定めた条件でアルミナ吸着法を行つた。

iii) アルミナ層の通過

上記の3種の試料に就てアルミナ吸着法を行つた処，squalene 及び squalene 重合物は殆ど 100% 通過してしまう。

粗 pristane では 98.8% が通過してしまう。残りの約 1% は不純物であると思われる。

b) 2～3 の炭化水素混合物を夫々アルミナ層を通過せしめた場合

i) 試料——squalene, squalane および pristane は夫々 a) 項の sample を用いた。ウバザメ肝油は，squalene 及び pristane を含むのでうばざめ肝油の不鹸化物を常法で採取して用いた。

ii) 方法——我々の方法で行つたのであるが (前章参照) 試料を入れた小三角フラスコを洗滌する際 3cc 又は 5cc の石油エーテルで区分しアルミナ層上の石油エーテル層が約 2mm となつた時次の 3cc 又は 5cc を注加する毎に受器を変えて 3cc 又は 5cc 毎に通過して来る炭化水素の量を測定した。

iii) squalene, squalane 及び pristane 各々のアルミナ層の通過。

squalene, sqalane 及び pristane に就き各々石油エーテル 30cc を用いてアルミナ吸着法を行つたがその際の石油エーテル 30cc を夫々 8cc, 3cc, 3cc, 3cc, 13cc に区分してアルミナ吸着法を行い，その各々の通過量を測定した処 Table 12 に示す結果を得た。

Table 12. Comparison of passing condition of squalene, squalane and pristane through alumina.

Name of hydrocarbon	1st fraction p. ether (8cc.)		2nd fraction p. ether (3cc.)		3rd fraction p. ether (3cc.)		4th fraction p. ether (3cc.)		5th fraction p. ether (13cc.)	
	P. m. g	P. r. %	P. m. g	P. r. %	P. m. g	P. r. %	P. m. g	P. r. %	P. m. g	P. r. %
Squalene 0.2145 g.	0.0157	7.32	0.0913	41.05	0.0810	37.76	0.0217	10.12	0.002	0.9
Squalane 0.2205 g.	0.0225	10.02	0.0940	42.62	0.0766	34.73	0.0185	8.39	0.0034	1.4
Pristane 0.2255 g.	0.0432	19.41	0.1187	53.36	0.0402	18.07	0.0045	2.00	0	0

Abbreviation: p. ether＝petroleum-ether, p. m. ＝passed matter, p. r. ＝passing ratio.

表に見る通り pristane は squalene, squalane に比し，通過し易い様である。

iv) squalene と squalane の混合物のアルミナ層の通過

次に squalene 49.25% と squalane 50.25% の混合物 (沃素価 181.8, n_D^{40} 1.4631) 4.065g を作りこの混合物から約 0.2g ずつの試料を各別に4本の column を通し，その合計 0.8816g に就ての結果を Table 13 に示す。

この表のうちの第2，第3の部分の沃素価，屈折率を測定して squalene, squalane の組成を算出した結果が Table 14 である。

この結果によれば squalene は squalane よりも早く column を通過する。

Table 13. Passing condition of the mixture of squalene and squalane through alumina.

Fraction (p. ether cc.)	Passed matter g.	Passing ratio %	Passed matter	
			I. no.	n_D^{40}
1st fraction (p. ether 5cc.)	0	0	—	—
2nd fraction (p. ether 5cc.)	0.3807	42.2	111.1	1.4545
3rd fraction (p. ether 5cc.)	0.4407	50.0	232.3	1.4695
4th fraction (p. ether 5cc.)	0.0455	5.16	—	—
5th fraction (p. ether 5cc.)	0.0082	0.93	—	—
6th fraction (p. ether 5cc.)	0.0054	0.61	—	—

P. ether=Petroleum ether

Table 14. Squalene and squalane contents calculated from iodine number and refractive index 2nd and 3rd fraction in Table 13 used.

Sample	Squalene per cent calculated from	
	Iodine number	n_D^{40}
2nd Fraction of Table 13	30.3	26.3
3rd Fraction of Table 13	63.5	62.4

Table 15. Passing conditions of the hydrocarbon through alumina when the unsaponifiable matter of the basking shark liver oil used.

Fraction (p. ether cc.)	Passed matter g.	Passing ratio %	Passed matter n_D^{40}
1st fraction (p. ether 7cc.)	0	0	—
2nd fraction (p. ether 2cc.)	0.009	0.98	—
3rd fraction (p. ether 2cc.)	0.163	17.93	1.4790
4th fraction (p. ether 2cc.)	0.2054	22.6	1.4820
5th fractien (p. ether 2cc.)	0.074	8.14	1.4830
6th fraction (p. ether 2cc.)	0.0137	1.5	—

p. ether=petroleum-ether

v) ウバザメ肝油より得た不鹼化物のアルミナ層の通過

ウバザメの肝油から前述の方法によつて得た不鹼化物を，同様にして検討した結果を Table 15 に示す。Table 15 に於て各部分の屈折率より推定すると pristane の方が squalene よりは早く column を通過するらしい。

摘　　要

(1) 従来の炭化水素量定量法を吟味し著者等の炭化水素定量法を定めた。

(2) Fitelson 法，辻本法と著者等の方法とを比較した結果肝油類の炭化水素定量法としては著者等の方法は信頼し得る値を示すことを明かにした。

(3) 吸着剤としてアルミナの代りに酸性白土を用いられるか否かを検討した。酸性白土は使用条件を更に吟味すれば炭化水素定量用の吸着剤として使用可能であることを指摘した。

本稿を終るに当り炭化水素量に関する報文を御送附下さつた J. Fitelson 博士，Karnovsky 教授に深甚なる謝意を表する。

文　　献

1) 東，増田，井関：本誌 **13**, 45 (1947).
2) 辻　本：工化 **20**, 953, 1069 (1917).
3) J. Fitelson : *J. Assoc. Off. Agric. Chem.*, **26**, 499 (1943).
4) M. L. Karnovsky : *J. Soc. Chem. Iud.*,: **66**, 124-125 (1947).
5) 外　山：工化 **27**, 333 (1924).

深海産鮫類肝油の利用に関する研究—III. 炭化水素中の Squalene 量の算出について

東　秀 雄・金子徳五郎・杉井麒三郎
(東 海 区 水 産 研 究 所)

Studies on Utilization of the Liver Oil of Deep Sea Sharks—III. The Determination of the Squalene Content in Hydrocarbons

Hideo HIGASHI, Tokugoro KANEKO and Kisaburo SUGII

FITELSON (1943) determined the iodine number of hydrocarbons by the ROSENMUND-KUHNHENN method and calculated the squalene in hydrocarbons. We found, however, that the ROSENMUND-KUNHNHENN method could not take the constant iodine number of squalene or oils containing amounts of squalene. Then we compared this method with others such as of WIJS, HANUS and KLEE-BENHAM, in regard to the relation of the halogen excess, reaction time and iodine number. In the next place, we examined whether squalene in hydrocarbons can be calculated from refractive index or specific gravity of dydrocarbons.

Experiment:

Squalene used for the experiment was prepared from the liver oil of the deep sea sharks, *Dalatias* sp.: extract the unsaponifiable matter from the liver oil of *Dalatias* to dissolve with petroleum-ether; pass through the column of alumina, remove petroleum-ether, distill the passed matter at 230～250°C/2 mm.

The hydrocarbon thus obtained to be almost pure squalene. The characteristics of this squalene are as follows: refractive index n_D^{40} 1.4890, specific gravity d_4^{15} 0.8661, colorless and transparent. Theoretical iodine number of squalene is 371.1.

In addition the liver oils of a few species of sharks were used for the experiment.

a) We determined by the ROSENMUND-KUHNHENN method iodine number of the squalen, the liver oils of *Dalatias* sp., *Centroscymnus owstoni* respectively, to examine the relation between these iodine numbers and halogen excess as indicated in Tables 1～7, and Figures 1～7. It is evident from these tables and figures that the iodine number falls in accordance with decrease of halogen excess.

b) The squalene has been sampled at seven intervals of time during hydrogenation of it, using RANEY-Ni as a catalyst. The following are refractive index of the samples.

Sample	Refractive Index 40°C.	Sample	Refractive Index 40°C.
a	1.4890	e	1.4563
b	1.4790	f	1.4558
c	1.4710	g	1.4498
d	1.4635		

1953 年 1 月 14 日受理　東海区水産研究業績 B 第 94 号（印刷費負担）

Determine iodine number of the squalene by the ROSENMUND-KUHNHENN method to examine the relation between halogen excess and iodine number (Table 8 and Figure 8).

These results indicate that the lowering tendency of iodine number that follows decrease of halogen excess becomes slack in association with progress of the hydrogenation of the sample. This may be caused by some unstable factors which would disappeare from the sample during the hydrogenation.

c) We studied the relation of halogen excess and the iodine number of squalene, using KLEE-BENHAM reagent improved from the ROSENMUND-KUHNHENN method (Table 9 and Figure 9). The results show that the iodine number lowers when the halogen excess is curtailed and that the iodine number gained from this test is much higher than the calcurated value.

d) As indicated in Tabes 10, 11, the iodine number obtained by the HANUS method fluctuates more remarkably than that by other methods, depending on the amount of halogen excess.

e) The iodine number which has been resulted from the WIJS method when reaction time is one hour and halogen excess is 50 % or over, approaches to the theoretical value (Table 12, Figure 12).

Under the conditions other than above the iodine number lowers when halogen excess is curtailed (Tables 13–15, Figures 13–15).

f) The method for calcurating the squalene content from either the specific gravity or the refractive index of some hydrocarbons has been tested, but is has been given up because we found an error in the assumption made by us.

(I) 緒　　　言

著者等は前報に於て深海産鮫類肝油の炭化水素のアルミナ吸着法による定量法を吟味し，著者等の炭化水素定量法を定めた。

次いで著者等は炭化水素中の squalene 量を知る為に FITELSON[1] の方法により炭化水素の沃素価（ROSENMUND-KUHNHENN 法）よりその中の squalene 量を算出せんとしたが，squalene の沃素価は ROSENMUND-KUHNHENN 法によつては一定の価を得難く従つて FITELSON 氏の炭化水素中の squalene 量の算出法は尚吟味を要することを見出した。

本報に於ては squalene, squalane を多く含む炭化水素或は肝油類の沃素価を ROSENMUND-KUHNHENN 法法，WIJS 法，HANUS 法及び KLEE-BENHAM 法で測定した結果並に炭化水素の屈折率，比重より squalene を算出する方法の適否について吟味した結果を報告する。

(II) 実　　　験

(A) 沃素価測定法の吟味

上記の4つの沃素価測定法に就てハロゲン過剰率及び作用時間を種々に変更して沃素価を測定してその結果を比較した。過剰率は次の2通りで示した。

過剰率 A は従来から用いられている表現法で試料に吸収せられずに残存する過剰ハロゲン量を空試験に使用したハロゲン量で除した値を百倍したものである。

過剰率 B は KLEE-BENHAM両氏によつて用いられた表現法で，試料に吸収せられずに残存する過剰のハロゲン量を空試験に使用したハロゲン量と吸収せられずに残存する過剰のハロゲン量との差で除した値を百倍したものである。

過剰率を変える為には試薬量は一定とし試料の量を増減した。

i) 試　　料

(a) アイザメ肝油——駿河湾産のアイザメ *Dalatias sp.* 肝油を用いた。この肝油の不鹸化物含有量は 91.08%, n_D^{40} 1.4810 である。この不鹸化物は大部分 squalene である。

(b) ユメザメ肝油——駿河湾産のユメザメ *Centroscymnus owstoni* 肝油を用いた。この肝油の不鹸化物含有量は 77.2%, n_D^{40} 1.4702 である。この不鹸化物も大部分 squalene である。

(c) 粗オレイン酸エチル——椿油より鉛塩アルコール法で固体脂肪酸を大部分除去した液体混合脂肪酸をエチルエステルとして減圧蒸溜して採取したもので少量の飽和脂肪酸を含む。

(d) squalene——駿河湾産のアイザメの肝油より不鹸化物をとり石油エーテル溶液となし，アルミナ column を通過せしめ通過物より石油エーテルを除きそれを減圧 (2 mm) 蒸溜して 230～250°C の溜分をとり供試 squalene とした。このものは無色透明で n_D^{40} 1.4890, d_4^{15} 0.8661 である。(squalene の沃素価理論値は 371.1 である。)

(e) 還元した squalene——squalene を Raney 触媒を使用して，還元程度の異なる還元物を作つて試料とした。

ii) Rosenmund-Kuhnhenn 法による沃素価測定結果

測定液——ピリヂン 16 g 及び濃硫酸 20 g を各々別々に冷却しつゝ純氷醋酸 40 cc 宛に溶解し両液を冷却しつゝ注意して混合する。別に臭素 16 g を氷醋酸 40 cc に溶解したものを上記混合液に加え氷醋酸を加えて 1*l* とした。これは N/5 に相当している。この測定液を 25 cc, 四塩化炭素を 10 cc 用いて測定した。

a) アイザメ肝油の沃素価測定結果

我々は多数の鮫肝油の沃素価を測定した際アイザメ肝油について一定の価が得難いのでアイザメの肝油について過剰率を変じてその沃素価を測定した。

その結果を Table 1 及び Fig. 1 に示す。

b) ユメザメ肝油の沃素価

次にユメザメの肝油に就て同様の実験を行つた。この結果を Table 2, Fig. 2 に示した。

Table 1. Relation of excess reagent and iodine number of *Dalatias* liver oil (Reaction time, 15 min., N/5 Rosonumund-Kuhnhenn reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
68.1	213.3	375.0
66.5	199.0	361.4
60.1	150.2	354.9
59.8	149.0	348.9
56.8	131.2	345.8
49.8	99.1	338.8
43.4	76.9	337.6
40.2	67.2	326.8
34.5	52.7	319.7
33.0	49.3	319.6
20.5	25.8	311.6

Note: Excess $A=\frac{a}{b}$, Excess $B=\frac{a}{b-a}$,

where 'a' represents the amount of halogen left unabsorbed to a sample, and 'b' halogen used in a blank test. The similar signs appearing in the forthcoming tables and figures read in the same purport.

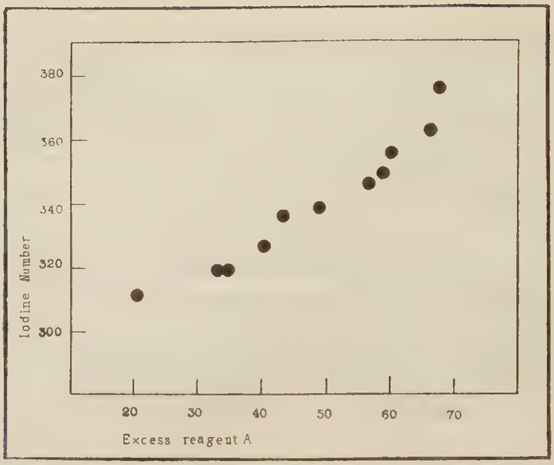


Fig. 1. Relation of excess reagent and iodine number of ***Dalatias*** liver oil (Reaction time, 15 min., N/5 ROSONMUND-KUHNHENN reagent).

Table 2. Relation of excess reagent and iodine number of ***Centroscymnus*** liver oil (Reaction time, 15 min., N/5 ROSENMNUD-KUHNHENN reagent)

Excess A	Excess B	Iodine number
70.4	237.2	223.1
67.8	210.1	219.0
63.1	170.5	218.6
62.2	164.1	217.8
58.2	139.0	213.7
53.8	116.0	210.7
44.9	81.4	209.8
34.1	51.7	208.7
27.9	38.7	203.2

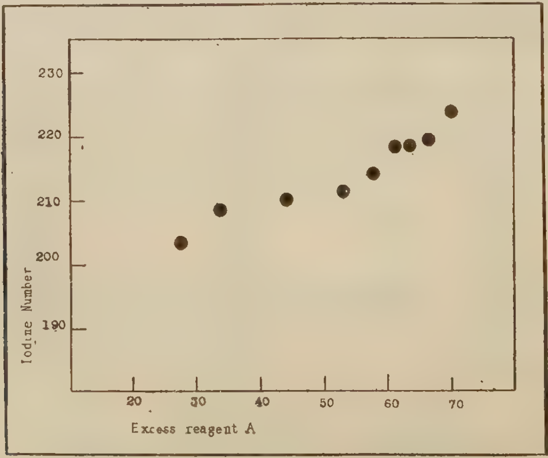


Fig. 2. Relation of excess reagent and iodine number of ***Centroscymnus*** liver oil (Reaction time, 15 min., N/5 ROSENMUND-KUHNHENN reagent)

これらの結果に見る如く squalene 含有量の多い肝油については普通に行われている Rosenmund-Kuhnhenn 法で沃素価を測定しても一定の値が得られない。

c) 粗オレイン酸エチルの沃素価

これらの肝油については Rosenmund-Kuhnehnn 法では過剰率の減少に伴いその沃素価は低下するが，我我の沃素価測定の当否を検する為，椿油より得た粗オレイン酸エチルに就て同様の試験を行つた処次に示す如き結果が得られた。即ち squalene を含有しない場合には一定の沃素価が得られることを確認した。

試　料	過剰率 A	Iodine number
1	80.9	75.6
2	64.7	75.9
3	45.1	75.7
4	27.6	76.1

d) squalene の沃素価

(1) 作用時間 15 分の時

N/5 試薬を用い作用時間を 15 として過剰率を種々に変えた時の結果を Tab. 3, Fig. 3 に夫々示した。

Table 3. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 15 min., N/5 Rosanmund-Kuhnhenn reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
80.5	414.0	385.3
76.2	320.0	382.7
68.1	213.0	374.4
65.3	187.5	371.5
52.9	112.3	368.9
51.0	103.7	367.0
46.6	71.2	364.1
32.5	48.2	343.8

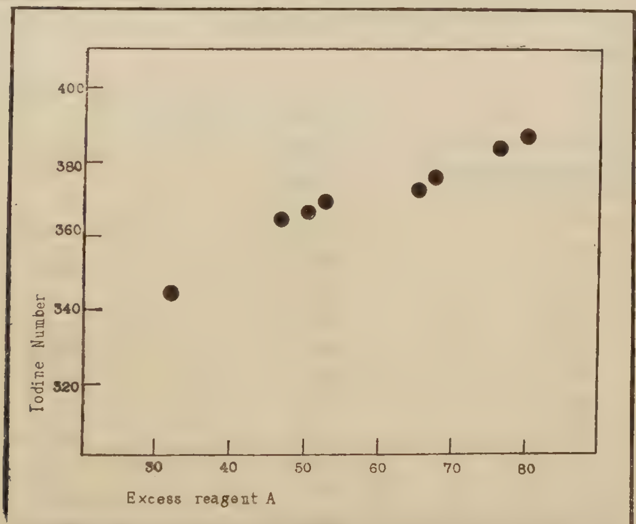


Fig. 3. Relation of excess reagent of iodine number of squalene (Reaction time, 15 min.,, N/5 Rosenmund-Kuhnhenn Reagent)

こゝに示されるように過剰率 (A) が 50% 以上でも，一定の値は得られない。

Tab. 4, Fig. 4 は夫々 N/10 の試薬を用いた時の結果を示しているがこれも同様で，一定の値は得られない。いずれも過剰率の減少に伴つて沃素価が低下するという傾向が見られる。

Table 4. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 15 min., N/10 Resenmund-Kuhnhenn reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
87.5	639.0	378.0
77.8	351.0	357.9
71.1	245.7	346.9
63.8	176.3	344.8
54.6	120.3	344.8

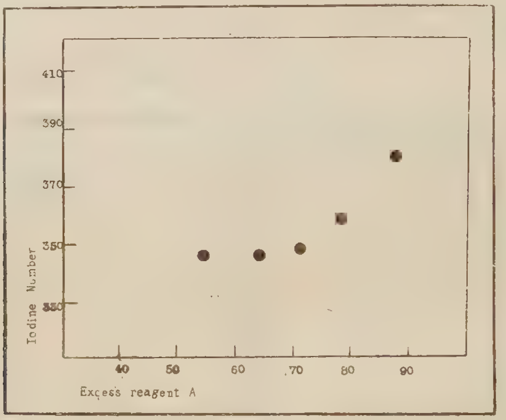


Fig. 4. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 15 min., N/10 Rosenmund-Kuhnhenn Reagent)

(2) 作用時間 30 分の時

作用時間を 30 分として N/5, N/10 の試薬を用い測定した結果を夫々 Tab. 5, 6, Fig. 5, 6 に示す。

Table 5. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (reaction time, 30 min., N/5 Rosenmund-Kuhnhenn reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
86.8	656.0	405.9
84.3	536.0	403.8
79.8	395.5	403.8
78.9	373.5	403.8
70.3	235.4	403.8
60.9	155.7	397.7
58.8	142.0	397.3
56.5	129.5	394.7
52.0	103.3	389.5
51.4	105.7	389.3
44.7	80.6	380.3

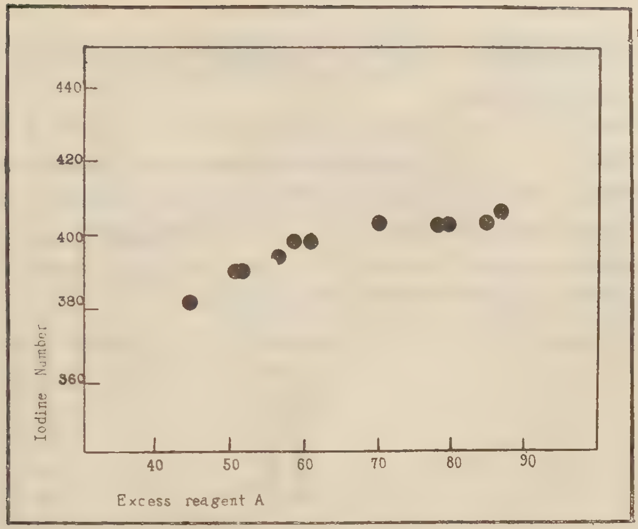


Fig. 5. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Relation time, 30 min., N/5 ROSENMUND KUHNHENN reagent).

Table 6. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 30 min., N/10 ROSENMUND KUHNHENN reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
78.8	373.0	367.4
60.8	155.2	362.7
59.6	147.6	356.6
51.0	104.2	349.7
47.4	89.9	349.5

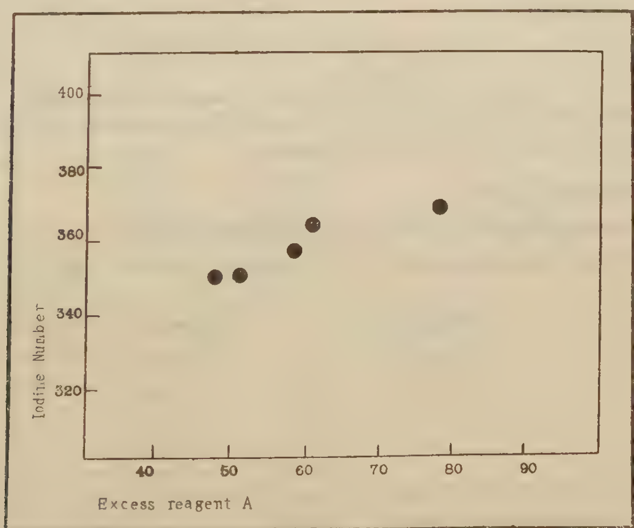


Fig. 6. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 30 min., N/10 ROSENMUND-KUHNHENN reagent).

これも略ゝ 15 分の時と同様に過剰率の減少に伴つて沃素価が低下する傾向を示している。

e) squalene と squalane の混合物

squalene と squalane (squalene を水素添加して沃素価 1 以下としたもの) を 100 g中 81.8 g : 18.2 g の割合に混合したものを作つた。この混合物の沃素価の計算数は 327.3 である。このものゝ沃素価を N/5 の試薬を用いて作用時間 15 分として過剰率を変じて測定した処 Tab. 7 及び Fig 7 に示すように squalene 単独の場合と同様に過剰率の減少と共に沃素価が低下して真の沃素価を摑むことは出来なかつた。

Table 7. Relation of excess reagent and mixture of squalene-squalane (Reaction time, 15 min., N/5 Rosenmund-Kuhnhenn reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
61.8	161.7	341.6
57.2	133.7	334.0
47.8	19.2	325.7
43.8	78.0	317.3
40.5	68.1	317.0

(Calcd. I. no. 327.3)

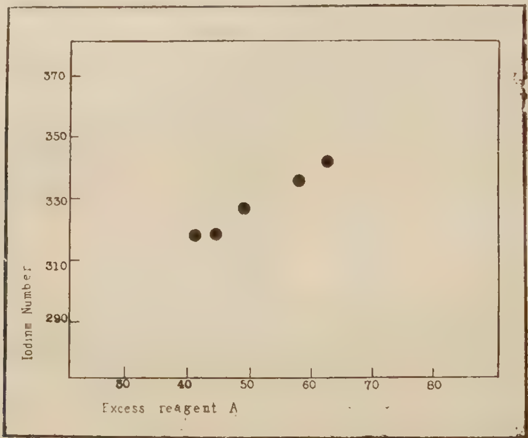


Fig. 7. Relation excess reagent and mixture of squalene-squalane (Reaction time, 15 min., N/5 Rosenmund-Kuhnhenn reagent).

f) squalene の水素添加物の沃素価

次に squalene を Raney 触媒を用いて水素添加して水素添加の程度を異にした次の 7 種の部分水素添加物を得た。(水素添加の進行と共に屈折率は低下する。飽和化合物 squalane は n_D^{40}1.4436 である)。

試験番号	屈折率(40°C)	試験番号	屈折率(40°C)
a	1.4890	e	1.4563
b	1.4790	f	1.4558
c	1.4710	g	1.4498
d	1.4635		

これらの試料につき夫々沃素価と測定した結果を Tab. 8, Fig. 8 に示した。

こゝに見られるように水素添加が進むに従つて，過剰率の減少に伴う沃素価の低下が少くなつて来る。Sample 5, 6, 7 になると過剰率 A 50% 以上の場合は略ゝ一定した値が得られる。

即ち squalene の沃素価測定に於て異常な影響を与える因子は或る程度の水素添加により消失する。

iii) Klee-Tenham 法* による squalene の沃素価測定結果

試薬は Klee-Benham 両氏の指示に従い，次の如く調製した。即ち氷醋酸 40 cc を 3 ケのフラスコにと

Table 8. Relation of excess reagent and iodine number of hydrogenated squalene (Relation time, 15 min., N/5 Rosennund-Kuhnhenn reagent).

a) n_D^{40} 1.4890 (Original)

Excess A	Excess B	I. no.
76.2	320.0	385.3
68.1	213.0	371.5
52.9	112.3	368.9
51.0	103.7	367.0
45.2	82.3	356.2
35.5	55.0	345.8
32.5	48.2	343.8
17.1	20.6	330.8
6.4	6.9	321.7

b) n_D^{40} 1.4790

Excess A	Excess B	I. no.
80.4	409.0	324.0
70.7	241.0	322.0
76.8	210.0	316.3
57.5	135.2	307.6
49.3	97.1	301.2
42.7	74.5	292.0
29.9	42.5	283.9
25.1	33.6	275.6

c) n_D^{40} 1.4710

Excess A	Excess B	I. no.
84.8	550.0	279.2
80.5	412.5	266.9
75.1	300.5	264.3
70.4	237.8	258.3
61.5	159.4	251.0
50.5	103.7	245.5
42.8	74.7	237.7
34.8	54.6	229.0

d) n_D^{40} 1.4635

Excess A	Excess B	I. no.
80.7	417.0	201.9
72.8	267.0	264.2
68.0	212.5	203.5
63.2	172.2	202.7
57.4	134.3	200.9
53.4	114.8	193.2
46.9	88.6	192.3
43.5	77.0	188.4
29.5	41.9	179.9

e) n_D^{40} 1.4563

Excess A	Excess B	I. no.
74.3	289.0	131.5
48.5	94.1	131.1
36.8	58.2	128.9
26.7	36.4	121.6
20.1	25.1	114.4
10.8	12.1	110.2

f) n_D^{40} 1.4558

Excess A	Excess B	I. no.
74.4	291.0	119.8
63.9	176.8	119.3
56.4	129.2	118.8
43.4	76.7	114.2
37.8	60.9	111.9
31.4	45.7	108.0
27.3	37.6	103.2

g) n_D^{40} 1.4495

Excess A	Excess B	I. no.
86.5	639.0	64.6
81.9	452.7	61.9
67.2	204.1	60.6
65.4	188.3	59.8
62.4	165.7	59.0

* Rosenmund-Kuhnhenn 氏法の改良法。

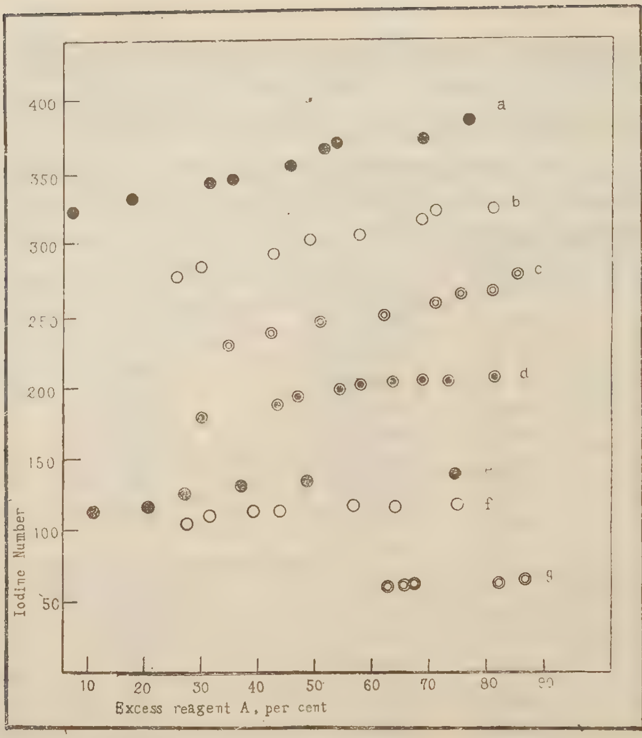


Fig. 8 Relation of excess reagent and iodine number of hydrogenated squalene (Reaction time, 15 min., N/5 Rosenmund-Kuhnhenn reagent).

りその一つにピリヂン 28.4±2g を徐々に加え,次のフラスコに 35.5±2g の濃硫酸を冷しながらとる。そして第2のフラスコの内容を第1のフラスコに冷却しつゝ加える。第3のフラスコに 28.35g の臭素を加えてこれを先の 2 つの混合溶液に加えて全量を 3.5l とする。試料を 10 cc の四塩化炭素に溶解し，試薬50cc を加え，これに触媒として 2.5% の醋酸第 2 水銀氷醋酸溶液を 10 cc 加えて沃素価を測定した。

Klee-Benham 両氏はこの方法は短い反応時間で正しい沃素価を得ると述べているが Tab. 9, Fig. 9 に示す如く squalene に於ては両氏の方法に従つて触媒を用いて測定しても一定の値は得られなかつた。

iv) Hanus 法による squalene の沃素価測定結果

測定液 Rupp氏の簡便法により沃度 13.2g を氷醋酸 1l に溶解し， これに臭素 3g を加えて調製した。

測定液 25 cc 四塩化炭素は 10 cc を用いた。

この結果は Fig. 10, 11, Tab. 10, 11 に示す如く， 過剰率の量により沃素価が甚だしく変化し一定の沃素価を得がたい。

Table 9. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (N/10 Rosenmund-Kuhnhenn reagent+Catalyst of Klee-Benham).

Reaction time, 1 min.			Reaction time, 5 min.			Reaction time, 15 min.		
Excess A	Excess B	I. no.	Excess A	Excess B	I. no.	Excess A	Excess B	I. no.
75.2	303.2	426.0	76.0	316.0	417.4	70.8	241.7	405.9
56.0	127.3	422.6	59.5	146.7	416.8	60.2	151.0	394.3
44.3	79.3	403.7	47.5	91.9	395.3	55.4	124.3	380.9
38.0	61.3	398.9	45.8	84.7	394.1	47.6	90.6	380.6
			34.8	53.5	386.0			

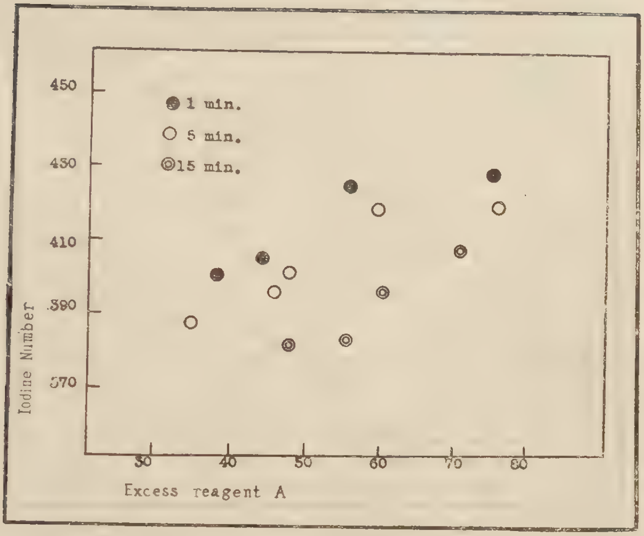


Fig. 9. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (N/10 Rosenmund-Kuhnhenn reagent+catalyst of Klee-Benham).

Table 10. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 min., N/5 Hanus regent).

Excess A	Excess B	Iodine number
85.3	850	373.6
81.4	437	365.5
76.6	326	362.6
74.8	298	347.7
72.1	259	336.3
70.6	240	327.0
68.6	217	317.1
64.4	181	296.7
59.3	146	287.8
56.8	134	284.7
50.6	103	271.8

Table 11. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 hrs., N/5 Hanus reagent).

ExcessA	Excess B	Iodine number
76.1	303	452.3
72.4	262	392.3
69.7	230	343.6
64.8	179	304.8
63.5	170	295.2
61.5	158	271.6
59.7	148	246.7

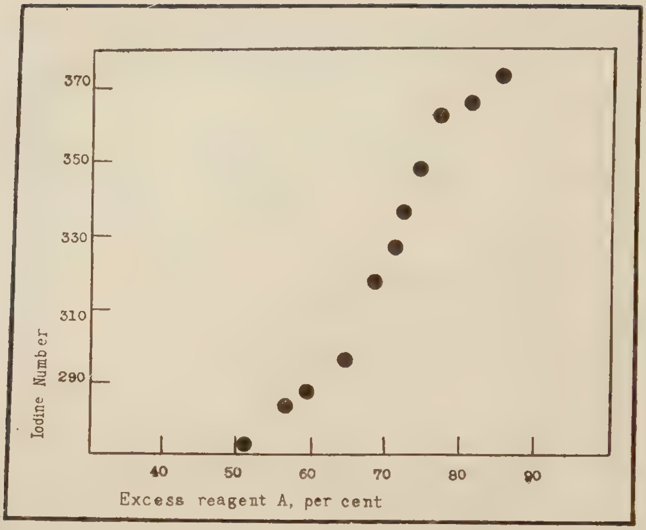


Fig. 10. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 min., N/5 HANUS reagent).

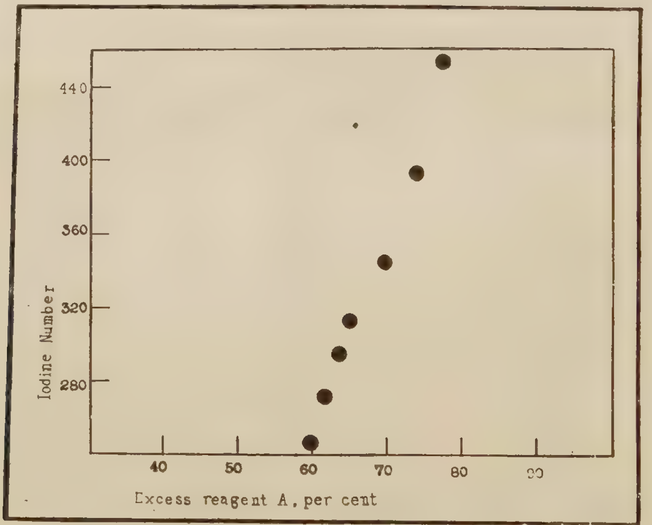


Fig. 11. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 hrs., N/5 HANUS reagent).

v) WIJS 法による squalene の沃素価測定結果

測定液 —三塩化沃素 7.9 g 及び沃素 8.7 g を各別に氷醋酸に溶解して後混合し，氷醋酸を以て 1*l* とした。測定液 25 cc，四塩化炭素は 10 cc を用いた。

a) 作用時間 1 時間の場合

作用時間を 1 時間として測定した時の結果は Tab. 12，Fig. 12 に示す如く，今迄の結果の中では最も一定した値を得られた。実用的には最も用い易い方法であると考えられる。

Table 12. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 1 hr., N/5 Wijs reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
83.2	492	369.9
80.4	409	369.5
73.4	275	369.2
69.6	228	364.7
63.5	174	364.3
57.2	133	362.0
53.3	114	359.1

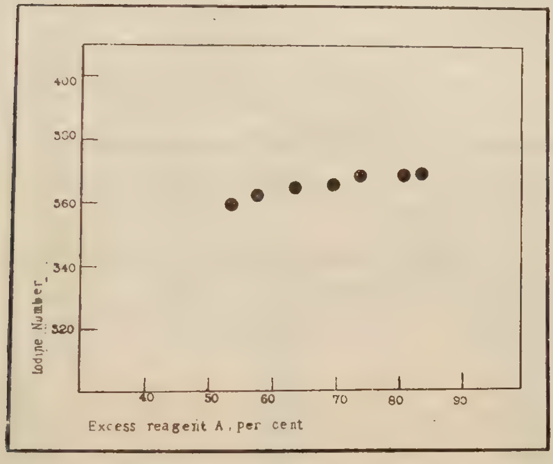


Fig. 12. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 1 hr., N/5 Wijs reagent).

b) 作用時間 2 時間及び 20 時間の場合

作用時間を 2 時間及び 20 時間として行つた場合の結果は Tab. 13, 14, Fig. 13, 14 に示したが 2 時間の場合は 1 時間の場合よりも過剰率の大小の差による沃素価の高低の差が大きい。20 時間の場合では，この傾向が更に甚だしい。

Wijs 法の場合作用時間 1 時間とした時，理論値に近く，それ以外の時は理論値から離れてしまうがその原因は不明である。

Table 13. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 2 hrs., N/5 Wijs reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
82.9	485	376.9
75.9	355	371.4
72.8	267	365.3
65.0	185	363.3
63.0	170	358.7
53.2	113.5	352.6
49.0	96.1	348.6

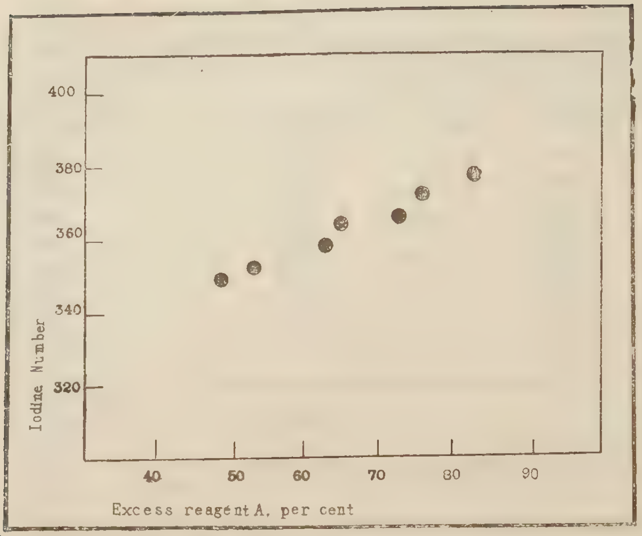


Fig. 13. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 2 hrs., N/5 WIJS reagent).

Table 14. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 hrs., N/5 WIJS reagent).

Excess A	Excess B	Iodine number
78.1	357	456.3
75.1	301	435.9
71.5	251	415.8
65.9	193	495.6
58.9	140	392.5
43.4	76.7	371.9

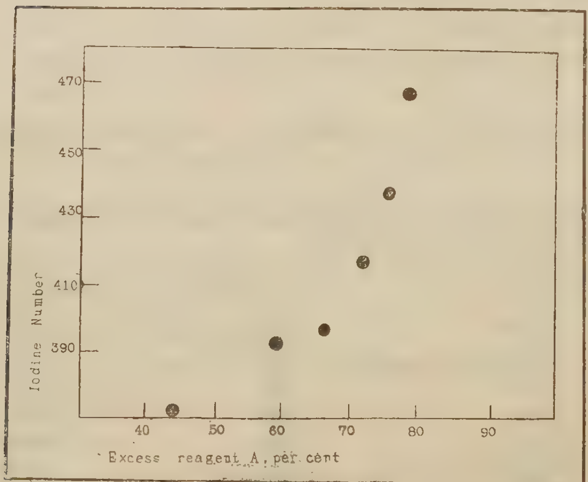


Fig. 14. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (Reaction time, 20 hrs., N/5 WIJS reagent).

c) 作用時間を 5 分及び 30 分とし Klee-Benham 法の触媒を用いた時

作用時間を5 分及び 30 分として夫々 Klee-Penham 両氏の用いた醋酸第 2 水銀を触媒として用いた結果を Tab. 15, Fig. 15 に示した。

Table 15. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (N/5 Wijs reagent+Catalyst of Klee-Benham).

Reaction time, 5 min.			Reaction time, 30 min.		
Excess A	Excess B	I. no.	Excess A	Excess B	I. no.
82.0	405.0	356.1	77.8	349.0	377.8
66.2	195.5	355.0	61.3	157.6	370.6
56.1	127.7	354.8	54.4	119.0	369.8
51.2	105.2	352.9	43.3	76.4	366.0
36.4	57.2	351.6	34.3	52.2	366.0

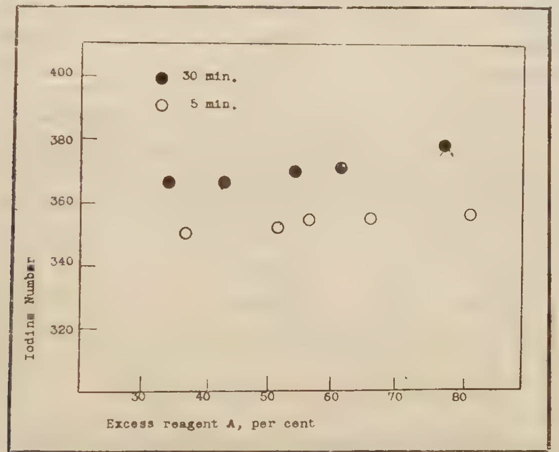


Fig. 15. Relation of excess reagent and iodine number of squalene (N/5 Wijs reagent+catalyst of Klee-Benham).

こゝに示される通り 5 分ではやゝ一定した値を得るが，理論値より低めである。30 分ではやゝ不定であるが理論値に近い値を得る。

上述の如く squalene の沃素価は一般の測定法によつては一定の値が得られないから，炭化水素の沃素価から，炭化水素中の squalene 量を算出することは現段階では問題である。次に我々は炭化水素の比重或は屈折率から squalene 量を算出することが可能か否かを吟味することにした。

(B) 深海産鮫類肝油より得た炭化水素の屈折率及び比重

我々は深海産鮫類肝油中の炭化水素を squalene 及び pristane のみより成ると仮定し，両者の比重及び屈折率を基礎として，供試炭化水素の比重或は屈折率より squalene 量を算出し得るか否かを検した。

i) 試　料

(a) squalene——沃素価吟味の実験試料と同一のものである。

(b) pristane——東京市場にて求めたウバザメ *Cetorhinus maximus* 肝油を蒸溜して低沸点部をとり，アルミナ吸着法を行つて，その初期に通過する部分をとつた。

(c) ヘラツノザメ肝油——相模湾産のヘラツノザメ *Deania sp.* 肝油 3 種を用いた。これらの肝油か

ら前報の方法で炭化水素をとりこれを試料とした。

(d) ウバザメ肝油——上記 (b) と同じ肝油から前報の方法で得た炭化水素を用いた。

ii) squalene, pristane の比重及び屈折率

或る炭化水素が squalene と pristane のみより成るとすれば炭化水素の屈折率又は比重より炭化水素中の squalene 量を算出することが出来る筈である。試料とした squalene 及び pristane の屈折率と比重を夫々測定した結果を Tab. 16 に示す。これより Fig. 16 に squalene と pristane の屈折率，比重の座標を夫々 a, b を以て示しこれを結ぶ直線を引く。若しもある鮫肝油中の炭化水素が squalene と pristane のみより成るならば，その炭化水素の屈折率，比重の座標は ab 上にある筈である。事実 squalene 48.14%, pristane 51.86% の混合物を作りその屈折率及び比重を測定した結果は Tab. 16 に示す如くであり，Fig. 16 に於てこの屈折率及び比重の価より求めた c 点は線上にある。

Table 16. Refractive index and specific gravity of squalene and pristane.

Sample	Refractive index 40°C.	Specific gravity 15°C.
Squalene	1. 4890	0. 8661
Mixture	1. 4580	0. 8220
Prinstane	1. 4316	0. 7837

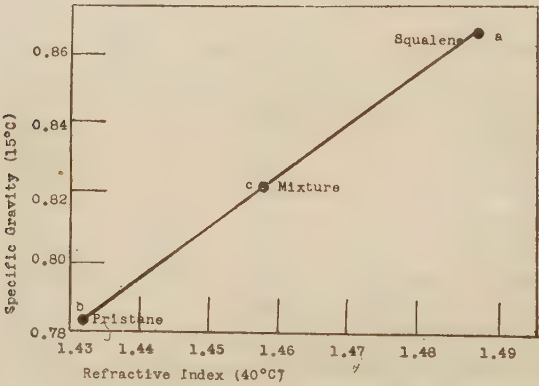


Fig. 16. Refractive index and specific gravity of squalene and pristane.

ii) ヘラツノザメ肝油の炭化水素の比重と屈折率に就て

3種のヘラツノザメ肝油から夫々前報の方法で炭化水素をとり，その比重と屈折率を測定した結果を Tab. 17, Fig. 17 に示した。

図中の線 a, b は Fig. 16 に示した線である。図に見るように比重に較べて屈折率の値が高い。

iv) ウバザメ肝油の炭化水素の比重と屈折率に就て

ウバザメ肝油から同様の方法で炭化水素をとり，その比重と屈折率を測定した処，屈折率 n_D^{40} 1. 4815, 比重 d_4^{15} 0. 8297 であつた。これはヘラツザメ以上に屈折率の値が比重に較べて高い。

v) ヘラツノザメ肝油，ウバザメ肝油の炭化水素の屈折率及び比重より squalene 量の算定

前記のヘラツノザメ肝油，ウバザメ肝油から得た炭化水素が仮りに pristane 及び squalene のみから成るとして比重と屈折率から夫々 squalene 含有率を求めた結果を Tab. 18 に示した。

表に見るように比重から計算した squalene 量と屈折率から計算した squalene 量とでは相当に喰い違いがあり，ウバザメでは殊に甚しい。即ち炭化水素が squalene 及び pristane の 2 種のみから成つていると

Table 17. Refractive index and specific gravity of unsaponifiable matter of *Deania* liver oil.

Sample No.	Refractive Index 40°C	Specific Gravity 40°C
1	1. 4872	0. 8603
2	1. 4875	0. 8605
3	0. 4882	0. 8622

いう仮定は不都合である。

squalene 以外の炭化水素が既知の一つの炭化水素のみである以外は屈折率或は比重を測定してそれから squalene 量を算出することは不可能である。

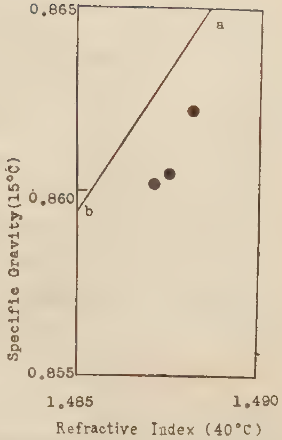


Fig. 17. Refractive index and specific gravity of unsaponifiable matter of *Deania* iiver oil.

Table 18. Squalene contents of unsaponifiable matter of *Deania* and *Cetorhinus* liver oil calcurated by refractive index and specific gravity.

Sample	Squalene contents calScurated by	
	Refractive index 40°C	pecific gravity 15
Deania 1	96.9	93.0
Deania 2	97.4	93.2
Deania 3	98.6	95.3
Cetorhinus	86.9	55.9

(IV) 摘　　要

炭化水素中の squalene の量を炭化水素の沃素価から算定する方法に就て検討した。squalene の沃素価は Wijs 法を用い作用時間を1時間とした場合は略一定した値を得られるが，Fitelson 氏の如く炭化水素の沃素価を Rosenmund-Kuhnhenn 氏法で測定し，その沃素価より squalene を算出することは我々の吟味の範囲では一定の沃素価を得難いから，この方法により squalene 量を算出することは問題であろう。

炭化水素の屈折率或は比重から squalene 量を算出出来るか否かにつき検討したが，炭化水素の屈折率或は比重から squalene の量を算出することは出来なかつた。炭化水素中の squalene 量を算定するには他の方法につき考究せねばなるまい。

後　　記

本稿を終るに当り文献を贈与された J. Fitelson 博士に深甚なる謝意を表する。

文　　献

1) I. Fitelson: *J. A. O. A. C.*; **26**, 499-506 (1943).

2) H. Benham and L. Klee: *J. Ame. Oil Chemist's Soc.*, **27**, 127 (1950).

マクリ（海人草）の生育年限と両性胞子の発生について

田　中　剛
（鹿児島大学水産学部）

On the Growth Peroid and Germination of Spores in *Digenea simplex* (WULF.) C. Ag.

Takasi TANAKA

Many points have been left uncertain on the multiplication and the life cycle in *Digenea simplex* (WULF.) C. Ag. The present writer has here ascertained the growth period and the spore germination.

The results obtained are as follows;

1) *Digenea simplex* is a perennial alga.

2) The mode of spore germination in *Digenea simplex* is distal erect type.

3) In tetraspore and carpospore, it is possible for us to distinguish some clear differences on diameter, cell-membrane, and chromatophore etc.

4) The commencement of the division of the tetraspore, at the early stage of spore germination, preceeds that of the division of the carpospore.

5) At the germination of tetraspore and carpospore, the mode of spore division may be reduced into two types of regular and irregular, while at that of the tetraspore the irregular type is apt to prevail over the case of carpospore.

緒　　言

マクリ（海人草）は本邦に於ては，暖海特に鹿児島県下に極めて多量に生育する紅藻で，駆虫剤として利用せられる重要なる有用藻類となつている。本藻の営養体の構造，生殖器官たる四分胞子囊及び囊果の構造については，既に岡村博士の日本藻類図説（1900），26 頁，第9図版に詳細に図示されているが，本種の生育年限，造果器発育過程，精子器，生活史，胞子発生に就いては，未だ観察されていない点が多い。研究者は今回マクリの増殖法を研究する目的のために，その基礎的調査として以上の未詳の諸点を闡明したく，昭和 25 年 7 月7日より鹿児島県下のマクリの主産地たる2カ所（種子島，島間，甑島，里村）及び鹿大，水産学部，研究室に於て，本植物の年間培養及び胞子発生様式過程を調査し，稍詳細に観察する事が出来たので，茲にその一端を表す事にした次第である。

先ずマクリの生育年限がどの位であるか，即ち一年性であるか多年性であるかの問題を解決するために，鹿大，研究室にて一ケ年以上継続培養を試みた。先ずその方法として硝子容器数個に生のマクリ数十個を海水中に浮べて生育せしめ，研究室裏の海岸から汲取つたきれいな海水（濁つたものはガーゼで濾過した）を毎日一回取換えて1カ年以上継続して，生育状況，枯死率等を観察した。

1951 年 11 月 1 日受理

次にマクリの両性胞子の発生に就いてゞあるが，元来紅藻類の胞子発生についての研究は，多数の学者によつて明にされているが，本邦に於ては，主として猪野俊平博士（海藻の発生，1947）によつて紅藻類 39 属，51 種の多数の種類についての詳細な報告がなされている。その共通した結論の一つとして認められた点は“紅藻類の両性胞子は同一種では，外観及び大きさも形も全く同一であつて，且つその発生様式も同じである”と云ふ事にある。然るに最近，北大，海藻研究所の中村義輝博士（科学，第 18 巻，10号，1948 年 10 月号）は紅藻類のヒラエゴノリ，クロバキンナンサウに於て，上記の結論と全く異なる即ち四分胞子と果胞子との大きさに於て，両者間に明かな差異が認められ，且又発生過程に於ても若干の差異を示す事を明にしている。今回のマクリの両性胞子の発生に於ても，中村博士の結果と同様，両性胞子間にその直径，細胞膜の厚さ，色素体，発生様式等に於ても明かな差異が認められて，従来の多くの紅藻類の胞子発生とは稍異なつた興味ある事実が観察された。

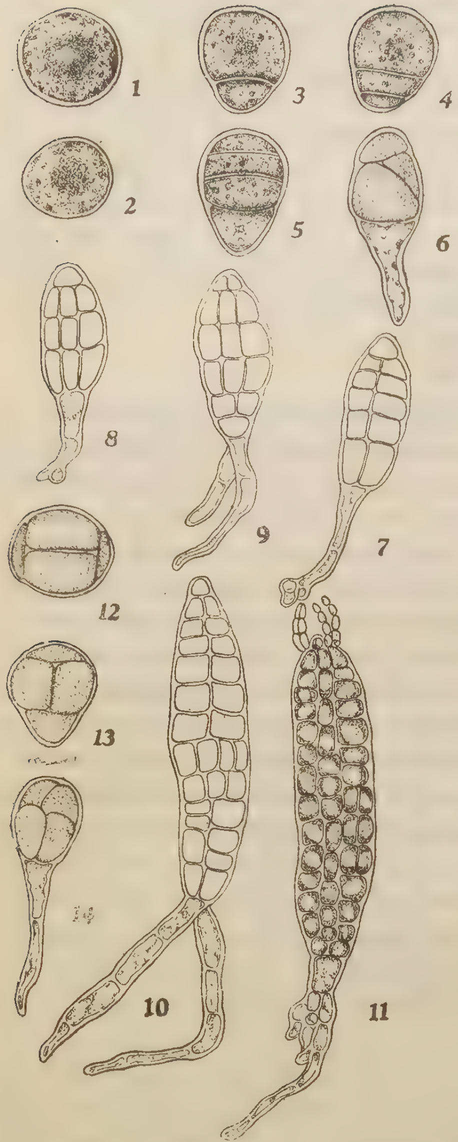
観　　察

1）マクリの生育年限　　海藻類が胞子を放出した後に枯死して一年で生育が終るか，或は更に翌年まで藻体が残つて再び生育するか，即ち一年性海藻であるか多年性海藻であるかは，有用藻類増殖の上から見て甚だ重要な点である。マクリに於てもこの点を確かめるために研究室内にて硝子器中に年間継続培養を行つて見た。即ち昭和 25 年8月 28 日，種子島，島間にて採集したマクリの藻体（岩石に附着していないもの）を海水を充満した木桶に入れて，研究室に持帰り，それを硝子容器（径 25 cm，高サ 12 cm）3 個にそれぞれ 17 個ずつ入れて，学校裏の海岸より汲取つた海水（濁つたものはガーゼで濾過した）を毎日一回取換えて年間継続培養を行つた。その結果は，培養初めの 8 月末から 9 月上旬にかけて，胞子を形成しているものは成熟して，殆んど全部放出され，藻体は秋から冬期にかけて，水温，気温の下降と共に枝の先端及び毛状小枝は次第に色調が悪くなり，12 月末に於ては毛状小枝が次第に脱落して来る。（尚研究室裏の海水温は年間測定したが，マクリ生育と水温との関係についてはある相関々係がある様に思われ，これについては目下調査中である。昭和 25 年では一年間を通じて，最高水温 29.6°C，最低水温 12.3°C）翌年の 26 年2月に到つてマクリの藻体の小枝の先端部及び上枝は次第に生活力を失い，腐蝕し初めたが，尚体の基部及び枝の下部に於ては，腐蝕もせず色調も変化が少い。この時期頃から藻体に珪藻類その他のものが多数附着したゝめ時々マクリの体を海水中でよく洗い，ピンセットでこれ等の附着物を取除く様につとめた。3 月から 4 月にかけて海水温が稍上昇し初めると，藻体の基部及び枝の先端部よりきれいな色調の小枝及び毛状小枝を新生し，内には同一個体の数ケ所から新小枝及び毛状小枝を発生し，それが古い枝の部分から分離して，数個体に分れるものも表われる。5月から 6 月に至つても尚生育を継続して，7 月より 8 月下旬に至つて，新個体は体長平均 2.2 cm に達して，生育を続けている。尚冬期間中，藻体全部枯死したものは総計 51 個体中 8 個体であつた。

2）マクリの生殖器官の構造，成熟時期及び両性胞子の発生．マクリの嚢果は毛状小枝の上部又は中央部の側面に生じ，卵円形をなし，果胞子はその成熟嚢果の頂端部の小孔より放出される。精子器も又毛状小枝の頂端の生長点を取巻いた薄い葉状体の内外面に生じ，稍黄白色を呈する。四分胞子嚢は毛状小枝内の稍膨

Tadle 1. Occurence of sexual and asexual individuals of *Digenea simplex*.

Locality	Date	Total	Tetrasporic plant	Cystocarpic plant	Antheridial plant	Imma-ture
Simama, Tanegasima	July, 7th, 1951	277	122	56	17	82
〃	August, 25th, 1951	373	75	198	48	52
Sato, Kosiki-islands	August, 3rd, 1951	181	67	55	27	32



れた部分に生じて螺旋状に並び，その部分の表面は凹凸して平坦でなく，四分胞子は三角錐状に分割される。時期が至れば各胞子嚢から一齊に胞子が放出される。

繁殖器官の形成及び成熟時期は生育場所によつて異なるが，鹿児島県下に於ては，南方（種子島，屋久島）程早く成熟し，種子島，島間地方に於ては 8 月中旬より下旬にかけて形成される。種子島，島間及び甑島，里村に於て調査した各胞子体形成の結果の一部は次表（第一表）の如くである。

胞子培養方法は，先ずマクリの嚢果及び四分胞子嚢群の形成された株を採集し，その嚢果及び四分胞子嚢の成熟程度を調査し，その生殖細胞が充分に熟したものを選び，その各株を濾過した海水を充した硝子容器に入れ，その器底にスライド硝子（片面を曇りガラスにしたもの）を数枚宛沈めて約 12 時間位放置した。その内，各藻体より放出された両性胞子は沈下して下部のスライド硝子に附着する

胞子の附着したスライドを別々に分けて，海水を盈した硝子小容器に移した。この硝子小容器（縦 6.5 cm，横 8.5 cm，高サ 3 cm）は毎日新鮮な海水と取換えて培養した。胞子発生過程の観察は，1 日数回胞子の附着したスライドを硝子小容器より取出して検鏡し，手早く描画器で写生し，乾燥しない内に又元の小容器に返した。胞子発生体は細胞膜が明で，細胞内には色素体が充満しているから，生の儘でその分割が観察された。

四分胞子の発生　1950 年 8 月 22 日，種子島，島間海岸に於て，多数の株より放出四分胞子を得た（水温 27°C，胞子成熟と水温との関係については目下調査中）四分胞子嚢より放出された四分胞子は嚢中にあるときは三角錐状をなし，それが分離して体外に放出されて発芽する頃になると一様に球形となる。その直径は 59 μ で頻度の最大を示し（第 2 表），球形でその核の周辺に濃く，細胞周辺部に薄く，一面に紅色の色素体が存在する。（第 1 図. 2）

第 1 図　Text-fig. 1. Representing sporeling development of ***Digenea simplex*** (Wulf.) C. Ag. 1. Liberated carpospore × 430. 2. Liberated tetraspore × 430. 3. First segmentation, forming two cells (18 hours after the carpospore liberation) × 430. 4—5. The second segmentation (2 days after) × 320. 6. The second segmentation forming a rhizoid cell at the extremity (2 pays after) × 438 7—8. A rhizoid developing further, consisting of several cells (4 days after) × 270. 9—10. Further development of embryo with a branched rhizoid (9. 4 days after, 10. 8 days after) × 270. 11. Representing a later stage of the development of rhizoid and that of one or two side branches at the apical part of the embryo (10 days after) x170. 12—14. Abnormal development of the spore (2 days after) × 430.

Table 2. Frequencies in diameter of tetra-and carpospores.

Diameter of spore (μ)	55	56	57	58	59	60	61	62	63	61	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78	Total
Frequency: Carpospore											2	4	5	9	27	㉜	19	7	4	4	2	2	1		118
Frequency: Tetraspore	3	5	8	15	㉗	18	5	2																	83

放出四分胞子はその外膜を包む粘液物質で直ちにスライド上に附着する。放出後 12—15 時間を経過すると，先ず第一の細胞分割壁が中央部に起り，胞子を大小に分割する。即ち大きな半球状の体部細胞と，小さな下方に突出した細胞となる（第1図，3）次に上部細胞では，第2分割壁がその上辺を第1のものに平行して走り，頂端細胞をつくる細胞となる（第1図，4）同時に下方細胞は，更に第1の分割壁と平行に分裂され，次第に伸長して長い仮根となる。発生後 3—4 日目頃から，この直立体の中央部にも垂直方向に分割壁が走り，体は数列の細胞層からなる様になり，この頃には1個の細胞である頂端細胞は，太つた体部の尖端に尖つた様な形となる（第1図，11）また放出後 10 日目頃には先端の頂端細胞下に，別な生長点が出来て，側枝を出し初める（第1図，10）仮根は最初は，糸状の細胞として長く伸長し，時に分岐する事もあり細胞内の有色体も少く，殆んど半透明である。更に 10 日目頃には，長く伸びた仮根の尖端部が数ケ細胞となり，且拡大して吸盤状となり，地物に附着する様になる。中には仮根が分岐を行つたものや，第1の仮根の他に第2次の仮根が伸出するものも見られる（第 1 図，9—10）

果胞子の発生　1950 年 8 月 25 日，種子島，島間（水温 27.5°C）に於て放出胞子の発生過程を観察し，又種子島より鹿大，研究室に持帰つた雌性藻体より果胞子を放出させ，その発生過程を見た。果胞子が嚢果中にあるときは，稍々不規則な形をしているが，嚢果より外果に放出されて発芽前には一様に球形となる。果胞子の大きさは，四分胞子に比してはるかに大きく，その直径は 70 μ で最大頻度を示している（第2表）しかも四分胞子に比して，細胞膜が厚く，色素体も濃厚で，顕微鏡下で一見して四分胞子と区別が出来る（第1図，1[illegible]）。放出後 15—18 時間を経過すると，先ず第一回の細胞分裂が行われ，大小の二細胞となる。それより後の胞子発生過程は，四分胞子の場合と大略同じであるが，たゞその分裂速度は四分胞子の場合より稍遅く，又異状発生体たる異型の出現頻度も多少の差異が認められた。

考 察 と 結 論

マクリは主として熱帯，亜熱帯の南海に生育する暖流系の海藻の一つであり，暖海程その生育は著しい。南洋方面では体長 18 cm にも達するものも見られるが，本邦では普通 10 cm 以内である。本植物が一年生か或は多年生かの事実を実験的に証明したく，昭和 25 年より年間継続培養を実施中である。その試験結果では，本邦（鹿児島県）では，春期から夏期にかけて盛んに体の伸長，生育を続け，胞子を形成してそれが成熟して体より放出されると，体の伸長は中止する。即ち秋期から冬期にかけて水温の下降と共に，藻体の一部の小枝又は毛状小枝は次第に脱落し，小枝の一部では，腐蝕した部分も表われて来るが，翌春になり，水温の上昇と共に，体は再び生育を続け，新しい小枝及び毛状小枝を新生し，伸長して来る。マクリの藻体の越年の様子は，褐藻類のヒジキ[1]とは全く趣を異にしている。マクリは多年性海藻であるが，その生育年限が3年か4年かは，目下試験中である。

次にマクリの両性胞子間には，その形状の点にて明かな差異が認められるが この点は今日まで研究された大部分の紅藻類の両性胞子とは趣を異にしている。マクリの胞子発生様式は，直立型の一変型と見做される吸盤直立型（Typus errectus discalis, der aufrechte Typus, Discal erect type）に該当するもので，イギス目，フジマツモ科（*Rhodomelaceae*）の多くのものに見られる発生型と同一である。

マクリの生育年限，両性胞子の発生について総括的に列挙すれば次の如くなる。

1) マクリは多年性海藻で，水温の高い暖海では周年生育するが，比較的水温の低い処では，冬期間は生育せず，体の小枝及び毛状小枝の一部は脱落，枯死するが，翌春になり，水温が上昇すれば再び生育を続ける。

2) マクリの胞子発生様式は吸盤直立型である。

3) マクリの両性胞子間にはその大きさ，細胞膜，色素体等に於て差異が認められる。

4) 胞子発芽の初期には四分胞子の方が果胞子より速く分割を行う傾向がある。

5) 両性胞子の発芽に際して，規則正しい分裂過程をとる正型と，稍不規則な分裂過程をとる異型のものとがそれぞれ相混じて表われるが，四分胞子の分割の場合に，異型が果胞子の場合よりも多く出現する。

終りに本研究に要した経費の一部は，文部省科学研究費に依つたもので，茲に謝意を表する次第である。

文　　献

1) 須藤俊造: "ヒジキの株の成長について" 日本水産学会誌, **17** (1), (1951).

2) 中村義輝: '紅藻類の両性胞子について" 科学, **18** (10), (1948).

3) 猪野俊平: "海藻の発生" (1947).

ゼラチンの新定量法―II. 濾紙クロマトグラフィーの応用

柿本大壱・金沢昭夫
(鹿児島大学水産学部)

Another Method for the Determination of Gelatin– II. Applying the Paper Partition Chromatography

Daiichi KAKIMOTO and Akio KANAZAWA

Applying the dilution method of the paper partition chromatography we measured the gelatin content in the meat of the fishes.

As a results of its measuring this method showed the same desirable value as our own precipitating method which had reported in the current number of this bulletin.[1]

This method is easy, and save the time for treatment comparing with the usual method.

種々のアミノ酸を始めアミノ酸類似物，有機酸，無機物等の濾紙クロマトグラフィーによる分析法が広く応用されるに至つているが，最近更に之等の物質の定量に関する研究も盛んに行われつゝある。著者等[1]は曩に沈澱試薬を用いて動物組織中の熱水浸出液に於けるゼラチンの新定量法を発表したが更に濾紙クロマトグラフィーを応用したゼラチンの定量を試み二三の知見を得たので茲に報告する。本法の原理は通常アミノ酸の分離に屢々用いられる濾紙クロマトグラフィー用展開剤ではゼラチンは原点より移動しないので，これによつて移動性を有する他の物質からゼラチンのみを分離し，且つゼラチンがニンヒドリン並に他の二三のアミノ酸呈色試薬によつて呈色する性質を利用したものである。定量方法としては被検ゼラチン溶液の濃度を順次稀釈して濾紙クロマトグラフィーを行い，呈色剤によつて呈色しなくなる限界点即ち消失限界濃度を求め稀釈倍を乗して被検液のゼラチン量を決定するものである。曩に著者等の設定した新定量法に於て三塩化醋酸を用いて試料の除蛋白を行うと，ゼラチンは沈澱することなく濾液に移る事を知つたのであるが本法に於ても前処理として同様の除蛋白操作を行い，その濾液を下降法により濾紙クロマトグラフィーを行い，ゼラチン以外のニンヒドリン呈色物質を展開し去つた後常法の如く発色せしめて限界点を求めた。

実　　験

(1)　ゼラチンに対する呈色剤

濾紙クロマトグラフィーを行うにあたり，ゼラチンに対する呈色剤を決定するため武田薬品工業株式会社製 15 % 滅菌ゼラチン溶液を用い，non-partition 法により呈色せしめた結果第1表に示す如くニンヒドリンでは 0.25 % ブタノール溶液が最も鮮明な呈色を与えた。

Table 1　Relation between color reaction of ninhydrin and gelatin solution.

Solvent	Ninhydrin concentration %			
	0.05	0.10	0.25	0.50
Butanol	trace	a little clear	clear	clear
water	indistinct	trace	a little clear	clear

(2)　ゼラチン溶液の消失限界濃度。

試料として前記の 15 % ゼラチン溶液を 10

1951 年 9 月 25 日受理

倍に稀釈したものを原液とし、之を蒸溜水で順次 1/2 濃度に稀釈したものを non-partition 法により前記のニンヒドリン溶液で発色せしめて色斑の消失する点を確め，この際呈色せる最低濃度のゼラチン溶液を更に順次2倍より 10 倍まで稀釈した各溶液につき前同様 non-partition 法により発色せしめて呈色する最低濃度を決定し，このゼラチン溶液の濃度を消失限界濃度とした。即ち玆に言う消失限界濃度とは spot として認められるゼラチン溶液の最低濃度をさすものである。なお之等の実験を行うにあたり non-partition 法にはミクロピペットを用いて試料を一定 cc. 濾紙上に滴下した。実験の結果は第2表の通りで，これによるとゼラチン態 N-0.00836 % が消失限界濃度である 。

Table 2. a. Limited concentration of gelatin solution colored with ninhydrin.

Sample	Diluted magnification of orginal solution.	Total-N (gelatin-N) in sample	coloration
1	2	0.0836 %	+
2	4	0.0418	+
3	8	0.0209	+
4	16	0.0105	+
5	32	0.0053	−
6	64	0.0026	−
7	128	0.0013	−

Table 2. b. Limited concentration of gelatin solution colored with ninhydrin.

Sample No.	Diluted magnification of orginal solution.	Total-N (gelatin-N) sample.	coloration
4 a	16.8	0.00993 %	+
4 b	17.8	0.00940	+
4 c	18.9	0.00888	+
4 d	20.0	0.00836	+
4 e	21.3	0.00783	−
4 f	22.8	0.00731	−
4 g	24.6	0.00678	−
4 h	26.7	0.00627	−
4 i	29.1	0.00574	−

（3） ゼラチン溶液と展開剤との関係。

現在多数の展開剤がアミノ酸並にその類似物の分離検出に用いられているが，著者等はブタノール・醋酸，水（4:1:1)，フェノール・水（水 25 %），コリヂン（水飽和），コリヂン・ルチヂン（等量混合液にして水飽和）を用いてゼラチン溶液を展開せしめた処，何れの場合もゼラチンは原点に止まり，又前記の消失限界濃度も展開剤の種類によつては異ならず，上記の展開剤の何れを用いてもよいことを知つた。

（4） ゼラチン溶液の水素イオン濃度と呈色との関係。

アミノ酸のニンヒドリンによる呈色がアミノ酸溶液の水素イオン濃度に関係することは既に知られているが，ゼラチン溶液を濾紙クロマトグラフィーにかける場合その pH により呈色に影響があるか否かを知るため，マッキルベン氏緩衝液を用いて各々異なる pH 価を有する消失限界濃度のゼラチン溶液を調製し non-partition 法により呈色せしめた結果は第3表の通りであつた。即ち中性又は微酸性に於て発色が最も鮮明でありアルカリ性では発色が阻害される。なお中性と微酸性とでは明確な相違を認められなかつた。従つて被検液を調製する場合三塩化醋酸による除蛋白液は苛性ソーダで中和し，中性若くは微酸性とすることが望ましい

（5） 共存物質のゼラチン定量に及ぼす影響。

以上第4項までの実験は何れも純粋なゼラチン溶液を用いて行つた実験結果であるが動物組織の熱水浸出液に於けるゼラチン含有量を測るためには組織の中に当然含まれると想像される物質の影響を確かめる必要がある。動物組織の熱水浸出液にはゼラチン以外に水溶性蛋白質，ペプトン，アミノ酸，有機塩基，アムモニア，アミン，尿素，無機物等のエキス分が含まれているが，斯かる溶液を用いて濾紙クロマトグラフィーを行う場合此等の共存物がゼラチンの消失限界濃度に影響を与えたり，ゼラチンの試料原点に止まる事に影響を与えるとすれば濾紙クロマトグラフィーによるゼラチン定量は甚だ困難になる。此の関係を知るために

Table 3. Relation between pH of gelatin solution and ninhydrin coloration.

pH	Coloration.
4.0	+
4.4	+
4.8	+
5.2	+
5.6	+
6.0	+
6.4	⧻
6.8	++
7.2	±
7.6	−
8.0	−

Table 4. Limited concention of gelatin solution containing various N-compound.

Sample		Total-N (gelatin-N) in samle.
Standard gelatin		0.00836 %
Standard gelatin	+amino acid	0.00836
〃	+amine.	0.00836
〃	+inoraganic−N	0.00836
	+Bonito's pyloric coeca extract.	0.00836

ゼラチン溶液に諸種の物質を添加したものにつき常法により濾紙クロマトグラフィーを行つた結果ゼラチンは原点に残り第4表に示す如く添加した諸種の物質はゼラチンの消失限界濃度に対し全く影響を与えない事を知つた。

以上の実験結果から次の様な濾紙クロマトグラフィーによるゼラチン定量法を考案した。

（6） 濾紙クロマトグラフィーによるゼラチン定量法。

装置は径 18 cm のデシケータ（但し此の場合デシケータの大きさは左程問題ではない）1個と第2図に示す様なガラス製支持柱（径約 2.5 cm の試験管を約 10 cm の長さに切断したものを用うれば便利である）と径約 4.5 cm のペトリー皿及び滴下する展開剤を回収出来る様な径約 10 cm のガラス製受器（ペトリー皿を用いた）とより成り，第1図に示す様に装置する。濾紙は東洋濾紙 No.2 を 15×7 cm に切りあらかじめ鉛筆で枠を描き此の枠内にミクロピペットにより被検液の一定 cc. を滴下する。（その際滴下した液が枠の外にはみ出さない事が必要である）次に被検液を第2項に記した要領で稀釈してその各々を濃度の順に濾紙上の枠の中に左より滴下し，室温に於て乾燥した後第1図にある如く装置し上部の皿に展開剤を注加し直ちにデシケータの蓋をなし下降法によつて展開を行う。斯くして展開剤は時間と共に二次元クロマトグラフィーの如く滲透し始め暫くの後受器のペトリー皿に滴下するに到る。濾紙の上縁は展開途中に於て開き展開剤より離れることを防ぐ為に試薬瓶の蓋又は秤量管の蓋等でおさえておく事も必要である。一定時間の後濾紙を装置より外し展開剤を揮散せしめた後ニンヒドリン溶液を噴霧し加熱して常法の如く発色せしめる。此の場合ニンヒドリン

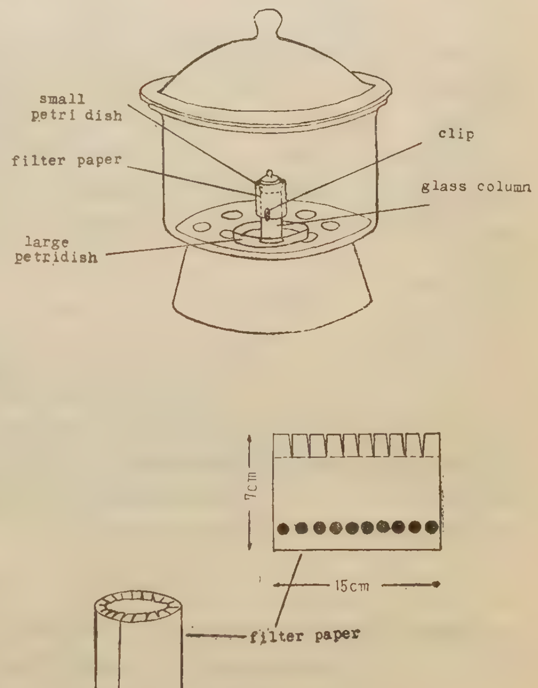


Fig. 1

の噴霧は枠内即ち原点附近のみで足り，一般にアミノ酸の分離検出に行うように展開剤の展開した全紙面に噴霧する必要はない。此等の操作，即ち展開剤を揮散せしめる温度，時間，ニンヒドリンの濃度，噴霧後の加熱温度，時間等の操作条件は定量分析である関係上一定する必要がある。著者等は種々実験の結果試料はミクロピペットで 0.002 cc. を濾紙上に滴下し 15 分間室温で乾燥したものを装置にかけ，展開時間は約 20°C の場合にブタノール・醋酸で 6 時間，フェノール・水では 8 時間，ルチヂン・コリヂン混液で 7 時間とした。展開を終り装置より外した濾紙は約 90°C (500 ワットの電熱器上約 16 cm 離したる位置）に加熱して展開剤をことごとく揮散せしめた後之に 0.25 % ニンヒドリンブタノール溶液を噴霧し約 90°C で 15 分間加熱し斑点の消失せざる最低限界濃度を求めた。

（7） 実　施　例

筋肉その他の試料約 10 gm を精秤し之に蒸溜水を加えて 5 時間煮沸後試料と共に 100 cc. のメスコルベンに満し，其の乾燥濾紙による濾液 80 cc. に三塩化醋酸を常法の如く加えて 100 cc. となし，乾燥濾紙を用いて濾過した濾液 10 cc. を苛性ソーダで中和し全体を 20 cc. となしたるものを順次 1/2 濃度に稀釈し，前記の如く濾紙クロマト用試料となす。斯くして得た第一次の消失限界濃度の溶液を更に第 2 項で述べた様に順次稀釈してクロマトグラフィーを行う。此処に得た消失限界濃度の溶液は 0.00836 % のゼラチン態窒素を含むものであるから此の値に原試料からの稀釈倍を乗じたものが試料中のゼラチン濃度になる。以上の方法に従い二三の水産動物肉，その他を用いて測定した値と著者等が曩に本誌に発表した定量法のものと比較すると第 5 表に示す如くほゞ一致する事が確められた。

Table 5. Gelatin content in the fish meat.

Sample	Gelatin-N in fresh matter %		Sample	Gelatin-N in fresh matter %	
	Kashiwada & Kakimoto's method	Proposed method		Kashiwada & Kakimoto's method	Proposed method
Isuropsis glauca	0.17	0.16	*Germo macropterus*	0.16	0.18
Catulus torazame	0.03	0.03	*Coryphaena hippurus*	0.03	0.03
Cestracion zygaena	0.20	0.21	*Thynnus thynnus*	0.01	0.009
Tetrapturus mitsukurii	0.32	0.35	*Trachurus trachurus*	0.05	0.05
Galeus glaucus	0.02	0.019	*Scomber Japonicus*	0.27	0.24
Tylosurus schismatorhynchus	0.08	0.07			

総　　　括

濾紙クロマトグラフィーを応用した稀釈法によるゼラチンの定量方法を考案し，水産物について測定した結果，著者等が曩に考案した沈澱試薬による方法とほゞ同一値を得た。本法によれば比較的簡単な操作で又比較的短時間でゼラチンを定量する事が出来る。終りに本研究に対し終始御懇切なる御指導を賜つた鹿児島大学水産学部柏田研一教授に深謝の意を表す。

文　　　献

1） 柏田研一，柿本大壱：日水会誌 18，203 (1951).

廣島灣に於けるノリ胞子附着について—II.

山崎　浩
（広島県水産試験場）

On Fixation of Spores of the Laver, *Parphyra tenera*, in the Hiroshima Bay-II.

Hiroshi YAMAZAKI

In order to forecast the optimal days for setting bamboo twigs (collectores of the spore) for culture of the laver, the appearance of its spores in the sea was studied.

The twigs were set at intervals of 2—3 days in October, 1950. After two weeks young buds growing on them were counted (Fig. 3) and the date of attachment of each original spore was assumed (Table 1) by observing the growth ratio of each bud (Fig. 4).

On the after hand, daily temperature and chlorinity of the offshore water and also wind was surveyed (Fig. 2).

From these date, it seems to be said that the spores of the laver are used to attach on the twigs during one to four days later when the offshore water have been mixed from the upper to the lower layer in windy times.

ノリ胞子の附着時期の予察はノリ養殖上極めて重要な問題でヒビの建込日の如何は附着種苗の多寡及び他生物の附着に大きい影響を与えノリの収量を左右する。特に浮簇に於てはこれによつて左右される事が著るしい。藤田[1]（1949）は広島湾に於て建込時期の風力と胞子の附着との関係について報告し，又須藤[2)3)]（1951）は沈澱法によるノリ胞子の定量方法によつて千葉県に於ける海況とノリ胞子の出現との関係を報じた。尚藤山[4]（1950）は愛知県に於て沖合の水温，比重の垂直観測を行い胞子の浮游と水温，比重との関係を報じた。ここに広島県水産試験場で昭和25年度ノリ養殖試験の一部として行つた沖合の海況と胞子の附着に関する試験結果について報告する。

方　法

長さ1間の割竹を各調査地点，各水位毎に水平に夫々12本宛を10月上旬から2～3日毎に建込み15日後にノリ，アオノリ，フヂツボの附着数を双眼検微鏡を以て調査し，又このノリ幼体をヒビから剝離してその細胞数を検鏡してこれから逆にノリ幼芽の成長速度（藤山）に基いて胞子が建込後実際に附着した日を検討した。沖合の海況の観測は**第1図**に示す深さ8米の地点に於て表面3米，6米層の水温，塩分を調査し，風力は当場に於ける毎時の観測値から風力2米以上の時間数を算定した。

附着数は1本のヒビについて5糎宛8カ所を調査し40糎を単位として表わした。

結　果

気温，水温，塩分及び風力との関係を**第2図**に示し各立込日によるノリ，アオノリ，フヂツボの附着を**第3図**に示した。尚各ヒビに附着したノリ発芽体の細胞数の分布状態とその出現率を**第4図**に示した。

1951年11月22日受理

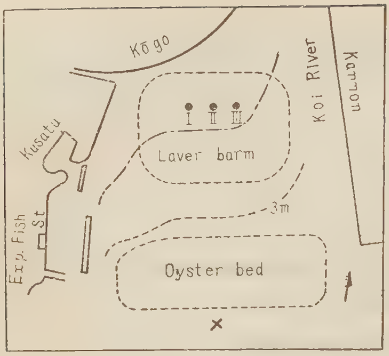


Fig. 1 ● Station where bamboo twigs were set.
× Survey-station of offshore water.

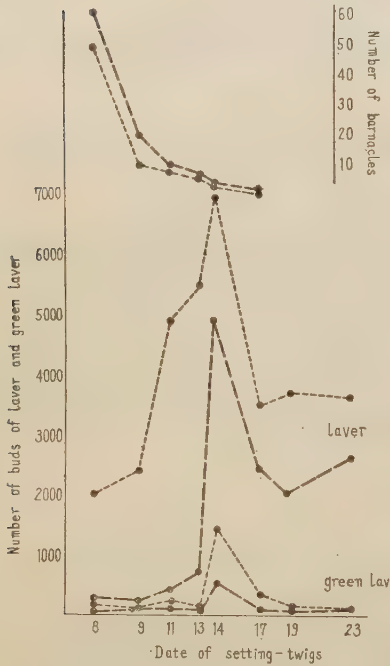


Fig. 3 Number of buds of laver, of buds of green laver and of barnacles attached to bamboo twigs set periodically in the sea. (counted on 15 th. day after setting.)······ 1.5 m, ----1.8 m. above low water level.

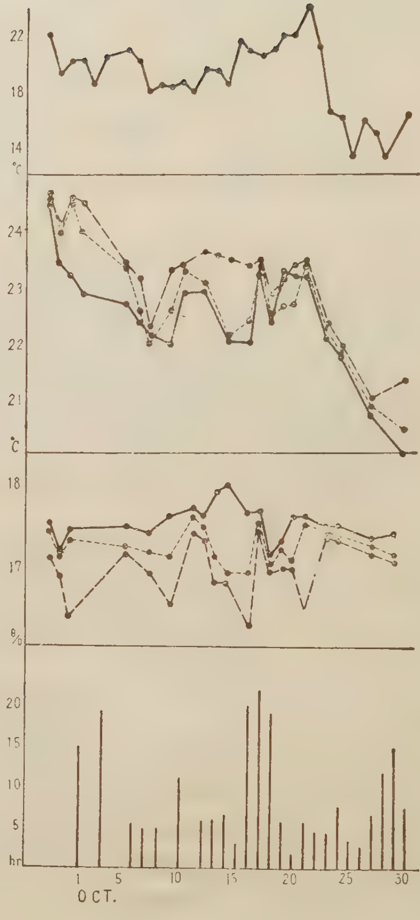


Fig. 2 Relation between wind and conditions of offshore water.
I ······atmospheric temp.,
II ······water temp.
III ······chlorinity. ——upper, ······middle, and----lower layer.
IV······daily times of wind-force more than 2 m/sec in hourly observation.

考　　察

第2図に示される如くノリ場の沖合で上，中，下層の水温，塩分を観測して見ると風の吹いた当日か，その翌日に成層が崩れ各層の水温塩分が極めて接近した日が現われている。第1報に於て風による海水の攪乱がノリ胞子の出現附着を促すものと考えたが，これは沖合で各層の水温，塩分を観測する事によつて海水の攪乱された状態を具体的に確める事が出来る。

次にこれとノリ胞子の出現附着との間の関係を調べて見ると各建込日による発芽数の変化は第3図に示す通りであるが更に各ヒビに就いて発芽体の細胞分裂数の分布状態から実際にノリ胞子が附着した日の推定を行つて見た。これに就いては籐山（1950）は愛知県に於て胞子の附着後の日数とこの胞子から生じた幼芽の細胞数との関係を報じている。愛知県と広島県とでは幼芽発生時の条件には差が少いと見られるので，胞子の発芽速度も先ず大差はないと考え，幼芽の細胞数を測り籐山の結果を用いて胞子の附着した日を推算した。その結果は第一表に示す様に，この期間中3回ノリ胞子の附着した時期を認める事が出来る。この推算の正確さについては更に検討を要するであろう。しかし幼芽の細胞数の分布に著るしい山が認められるので胞子の附着数が日によつて著るしく違うことは第4図から明らかである。又**第1表**の様に推算した胞子の附着の多い日が各試料で大体一致していることはこの推算が大体妥当なことを示すと思う。

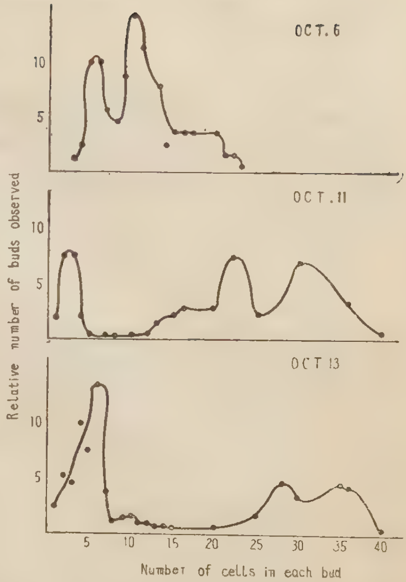


Fig. 4 Stsges in development of laver buds attached to bamboo twigs set on October 6 th. 11 th. and 13 th (observed on 15 th day after setting).

Table 1 Supposed date attachment of laver spores from the date in Fig. 4.

Date of setting bamboo twigs	Supposed date of attachment of spores		
	1 st	2 nd	3 rd
Oct. 6 th	Oct. 8—10 th	Oct. 13—15 th	
11 th		Oct. 13—15 th	Oct. 24 -25 th
13 th		Oct. 13—15 th	Oct. 24—25 th

この胞子の出現は何れもさきの海況が現われてから 1～4 日後に起つている。即ち巨視的に言つた場合の附着時期に胞子の附着発芽が絶えず行われるのではなく，風による海水の攪乱によつて胞子の浮上が起り其の後 1～4 日の短かい期間に出現附着すると考えられる。これらの結果からヒビを建込む日を予察するためには気温，水温，比重，干出時間，潮汐等を考慮の上，風がよく吹いて海水の攪乱が行われたと思われる日の翌日を選ぶとよいと思われる。

要　　約

ノリ胞子の出現は長期間にわたるものではあるが其間一様に出現するのではなく，数回に分れ短期間ずつ多量に出現するもので，この出現は風により左右せられ海水が攪乱され上，中，下層の水温，比重が接近した後 1～4 日後に多く出現附着する。

終りに臨み本研究に対し種々お教示を賜つた新崎盛敏，須藤俊造両博士，校閲を戴いた内海区水産研究所長花岡資博士，お指導を戴いた藤田正場長並に場員の方々に対して衷心より深謝する。

文献

1） 藤田外2名： 日水誌，**15**，(9)，(1949).
2） 須藤俊造： 日水誌，**15**，(11)，(〃)
3） 〃 ： 口頭発言 日本水産学大会，(1951).
4） 藤山虎也： 〃 〃 (1950).

雑録

○受理 （〔 〕内は経由した編集顧問の名）

受理番号	期日	著者	表題
327	1952～1～14	東秀雄，金子徳五郎，杉井麒三郎	深海サメ類肝油の利用に関する研究－Ⅱ 炭化水素の定量法について 〔東〕
328	〃 〃 〃	〃 〃 〃	〃 －Ⅲ 炭化水素中の Squalen 量の算出について〔東〕
329	〃 〃～23	簗瀬正明	水産動物のビタミン B_{12} について－Ⅰ 魚類のビタミン B_{12} 含量 〔東〕
330	〃 〃 〃	〃	〃 －Ⅱ 貝類のビタミン B_{12} 含量 〔東〕
331	〃 2～12	藤巻正生，小田切敏，稲垣長典	カツオ塩水漬罐詰中の所謂ビタミンCについて 〔東〕

（以上いずれも印刷費著者負担速報扱）

( )要旨速報欄の新設について

本誌の原稿が投稿から掲載までに一年有余を要するような現状の下で，折角有意義な研究が之に間地に埋れることはお互いに忍びぬところであります。しかし報文の全文の印刷費を従来の如き速報扱として著者が負担するには，あまりに多額に過ぎると思われますので，今回新たに要旨速報欄を設け，印刷事情が好転してその必要がなくなるまでの間実行したいと思いますから，大いに御利用下さい。

要旨速報についての内規

1. 日本水産学会誌に原稿を投稿する著者は投稿と同時又はそれ以後に於て，その報文の要旨又は一部を「要旨速報」として会誌に掲載することを申込むことが出来る。但し原報が受理されない中は要旨速報も掲載されない。

2. 編集者は後日本誌に掲載されるべき本来の報文の受理が編集会議に於て確認された後は，速かに申込みのあつた要旨速報を掲載せねばならない。

3. 要旨速報の印刷費は実費金額を著者が負担せねばならない。但しその支払いは掲載と同時に行われる（1頁 1800 円が基準)。

4. 要旨速報は欧文和文何れでもよい。但し和文の場合は表題と著者名には欧文をつけなければならない。

5. 要旨速報は組上りが一頁未満となつてもよい。（本会所定の原稿に表題を含み3枚で組上り一頁に相当する見込み）

6. 別刷は本会の「投稿に関する注意」中の別刷の項に準じて著者に配る。（50 部を超えれば有料)

注　　意

1. 既に投稿し受理された報文の要旨速報についても申込順に受け付けます。

2. 従来の印刷費全文著者負担速報との混同をさけるため，申込，照会には必ず**全文速報**及び**要旨速報**の語を使い分け投稿カードにも（全文速報）（要旨速報添付）等を明記して下さい。

3. 要旨速報の原稿には必ずその旨を赤字で明記して下さい。

昭和二十八年三月一日　印　刷
昭和二十八年三月五日　発　行

第十八巻　第九号

本号定価 150円
（送料別）

編集兼発行者　川　田　三　郎
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内

発　行　所　日本水産学会
東京都中央区月島三号地東海区水産研究所内
振替口座　東京 59529番

印　刷　者　加　藤　松　次

印　刷　所　株式会社 東　海　書　房
東京都中野区江古田3の1223
電話中野（38）4101

発　売　所　大日本水産会
東京都中央区月島3号地
東海区水産研究所内